

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES

Série A, n° 815 — N° d'ordre 841

THÈSES

présentées à la

FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir

le titre de Docteur de l'Université

(mention Sciences)

par

Frédéric LUDWIG

1^{re} Thèse : Études sur les effets à distance dans les organismes multicellulaires irradiés.

2^{me} Thèse : Propositions données par la Faculté.

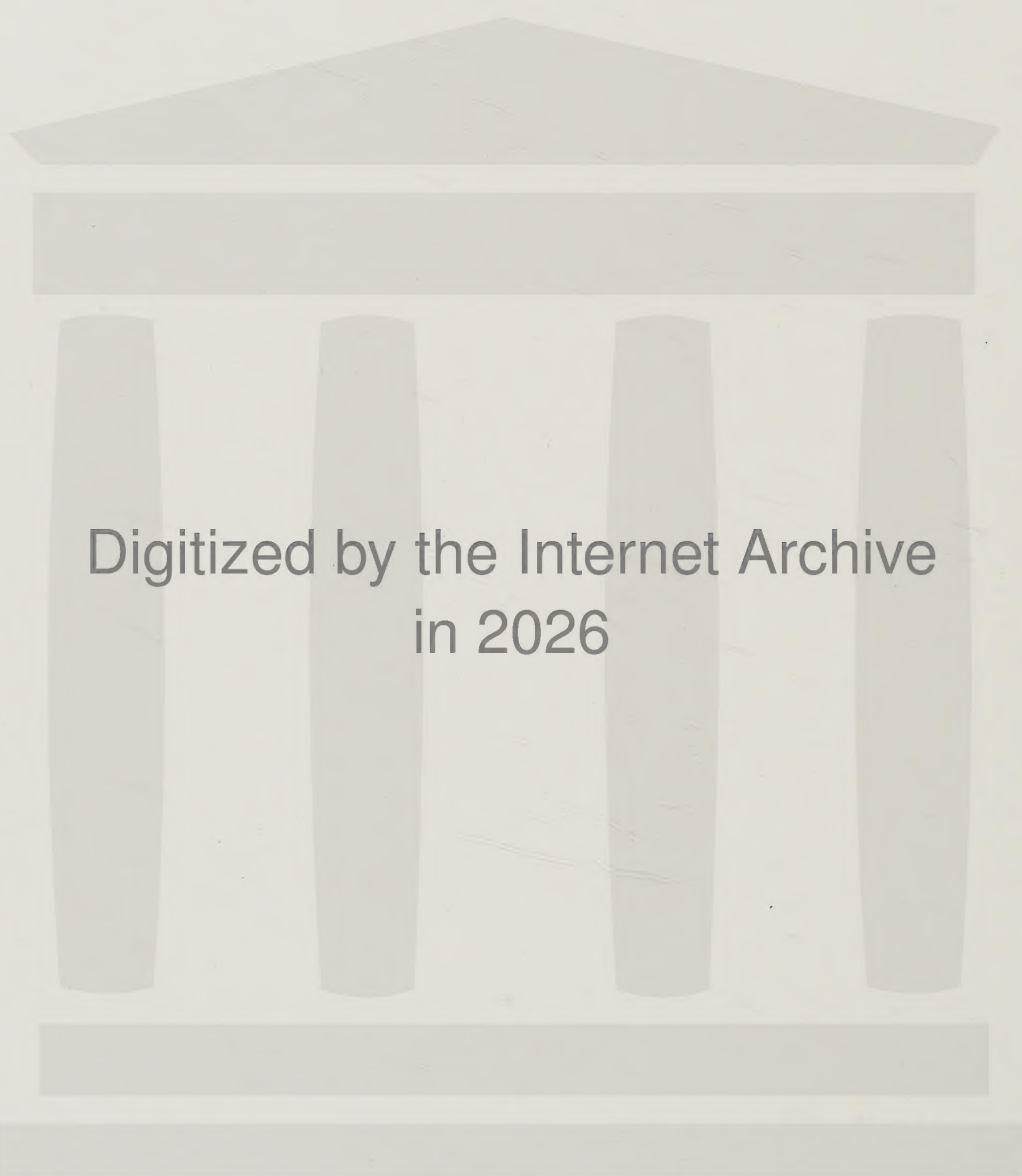
Soutenues le 12 Juin 1956 devant la Commission d'examen

M. WURMSER, Président

M. MAY

M. LAGET

} Examineurs



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555825_0063

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES

Série A, n° 815 — N° d'ordre 841

THÈSES

présentées à la

FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir

le titre de Docteur de l'Université

(mention Sciences)

par

Frédéric LUDWIG

1^{ère} Thèse : **Études sur les effets à distance dans les organismes multicellulaires irradiés.**

2^{ème} Thèse : **Propositions données par la Faculté.**

Soutenues le 12 Juin 1956 devant la Commission d'examen

M. WURMSER, Président

M. MAY

M. LAGET

} Examinateurs



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen.....J. PÉRES

- | | |
|---|--|
| G. JULIA. Analyse sup. et Alg. supér. | QUENEY. Météor. et dyn. atmosph. |
| FOCH. Méc. phys. et expérimentale. | GALLIEN. Embryologie. |
| PAUTHENIER. Electrotechnique Gle. | EICHHORN. Biol. Vég. (P.C.B.). |
| DE BROGLIE. Théories physiques. | DE CUGNAC. Biol. Vég. (P.C.B.). |
| PRENANT. Anatomie et Hist. comparées | Mlle CAUCHOIS. Chimie Physique. |
| GARNIER. Géométrie supérieure. | THELLIER. Physique du Globe. |
| PÉRES. Mécan. des fluides et applic. | L'HÉRITIER. Génétique. |
| LAUGIER. Physiologie générale. | GRIVET. Radioélectricité. |
| M. CURIE. Physique (S.P.C.N.). | PONCIN. Méc. des fluides. |
| BARRABE. Géol. struct. et Géol. app. | BUBREIL. Arith. et théor. des nombres. |
| G. DARMOIS. Calcul des prob. et Phy. | QUELET. Chimie organique. |
| Math. | CAGNIARD. Géophysique appliquée. |
| J. BOURCART. Géogr. phys. et Géol. | CHAMPETIER. Chimie macromoléc. appl. |
| dynamique. | CUVILLIER. Géol. struct. et Géol. appl. |
| PLANTEFOL. Botanique. | JUNG. Pétrographie. |
| GRASSE. Evol. des êtres organ. | TRILLAT. Microsc. et diff. électronique. |
| PREVOST. Chimie organique. | WIEMANN. Chimie org. et structurale. |
| BOULIGAND. Appl. de l'anal. à la Géo. | JACQUINOT. Spectrosc. et Phys. céleste. |
| CHAUDRON. Chimie appliquée. | VASSY. Phys. de l'atmosphère. |
| WYART. Minéralogie. | DESTOUCHES. Théories physiques. |
| TEISSIER. Zoologie. | M. PRUVOST. Géologie. |
| MANGENOT. Biologie végétale. | AMIEL. Chimie génér. (P.C.B.). |
| P. AUGER. Phys. quantique et Relat. | HOCART. Minéralogie. |
| MONNIER. Physiol. des fonctions. | J. P. MATHIEU. Physique (P.C.B.). |
| PIVETEAU. Paléontologie. | COUTEAUX. Biol. animale (P.C.B.). |
| ROCARD. Physique (E.N.S.). | MAY. Biol. animale (P.C.B.). |
| H. CARTAN. Mathématiques (E.N.S.). | CHOQUET. Calc. différ. et Intégral. |
| LAFFITTE. Chimie Générale. | FELDMANN. Biologie (P.C.B.). |
| FAVARD. Mécanique Générale. | GUINIER. Physique génér. (P.C.B.). |
| COULOMB. Physique du Globe. | JOST. Physiologie comparée. |
| Mlle COUSIN. Biol. animale (S.P.C.N.). | FORTET. Calc. des probabilités. |
| CHRÉTIEN. Chimie minérale. | SCHWARTZ. Méth. Math. de la phys. |
| P. DRACH. Zoologie. | CHOUARD. Physiologie Végétale. |
| KASTLER. Physique. | MALAVARD. Aviation. |
| EPHRUSSI. Génétique. | BRELOT. Calcul différentiel. |
| WURMSER. Biol. phys.-chimique. | NORMANT. Chimie organique. |
| RIVIÈRE. Géologie (S.P.C.N.). | BENARD. Chimie (P.C.B.). |
| GAUTHERET. Biol. Végétale (P.C.B.). | BUVAT. Botanique (E.N.S.). |
| LUCAS. Recherches physiques. | DUGUE. Statistiques mathém. |
| A. THOMAS. Biologie cellulaire. | GELOSO. Chimie (S.P.C.N.). |
| ARNULF. Optique appliquée. | SOULAIRAC. Psychophysiologie. |
| M. MORAND. Enseignement de Phys. | ULRICH. Physiol. Végétale. |
| SOLEILLET. Physique. | MARÉCHAL. Opt. théor. et appliquée. |
| FORTIER. Mécan. exper. des fluides. | KIRRMANN. Théories chimiques. |
| DANJON. Astronomie. | CHADEFAUD. Botanique. |
| LAPORTE. Phys. génér. et Radioactivité. | DESTRIAU. Physique (M.P.C.). |
| JANET. Mécan. anal. et Mécan. céleste. | Mlle LE BRETON. Physiol. générale. |
| PETIT. Biologie maritime. | SALEM. Mathém. générales. |

LELONG. Mathém. générales.
 DEVILLERS. Anat. et Histol. comparées.
 EHRESMANN. Topol. Algébrique.
 FRANÇON. Physique (S.P.C.N.).
 GLANGEAUD. Géogr. phys. et Géol. dyn.
 GODEMENT. Mathématiques (M.P.C.).
 PISOT. Calcul des Probabilités.
 E. ROCH. Géologie.
 SCHATZMANN. Astrophysique.
 TERMIER. Paléont. stratigr.
 ZAMANSKY. Mathém. générales.
 JOLIOT. Phys. nucl. et Radioactivité.
 LENNUIER. Physique (P.C.B.).
 RIZET. Génétique.
 Mme TONNELAT. Théories physiques.
 DIXMIER. Mathématiques (M.P.C.).
 SOUCHAY. Chimie générale.
 AIGRAIN. Physique (P.C.B.).
 BRUSSET. Chimie minérale.
 M. LÉVY. Physique théorique.
 LENORMANT. Physiologie.
 Mme CHAIX. Chimie biologique.
 Mme HUREL-PY. Biol. Végét. (P.C.B.).
 PIAUX. Chimie (P.C.B.).
 BRUN. Méc. exper. des fluides.
 LEDERER. Chimie biologique.
 Mme DUBREIL. Mathématiques.

Mme LELONG. Mathématiques (E.N.S.).
 BELLAIR. Géologie (S.P.C.N.).
 COTTE. Physique (M.P.C.).
 J. E. DUBOIS. Chimie (S.P.C.N.).
 LAMOTTE. Zoologie (E.N.S.).
 MICHEL. Chimie (S.P.C.N.).
 OLMER. Energétique générale.
 ROUAULT. Physique Enseignement.
 GAUTHIER. Mécanique appliquée.
 BARCHWITZ. Chimie Physique.
 BROUSSEL. Physique atomique.
 BUSER. Biolog. animale (P.C.B.).
 CAMUS. Biol. végétale (P.C.B.).
 CASTAING. Physique générale.
 CURIEN. Minéralogie et Cristallog.
 MOYSE. Physiologie végétale.
 NOIROT. Évol. des êtres organ.
 PANNETIÈRE. Chimie (P.C.B.).
 POSSOMPES. Biol. animale (P.C.B.).
 PULLMANN. Chimie théorique.
 TEILLAC. Phys. Nucl. et radioactivité.
 TONNELAT. Biol. physico-chimique.
 VILLE. Économétrie.
 WILLEMART. Chimie (P.C.B.).
 BELLAIR. Géologie (S.P.C.N.).

Secrétaire Général C. MONIER.

INTRODUCTION

En dehors d'une action sur le tissu qui absorbe l'énergie radiante, les rayonnements atteignent l'organisme pris dans son ensemble. Cette atteinte générale se traduit par des lésions anatomiquement circonscrites, qui s'ajoutent à celles produites par l'action locale du rayonnement. Nous les appelons « effets à distance ».

Comme le fait ressortir l'étude de la bibliographie relative aux effets à distance, on s'est toujours borné, malgré la diversité des méthodes employées, à établir la seule existence... de ces altérations, sans concevoir des protocoles expérimentaux permettant l'analyse des mécanismes qui sont à leur origine et qui régissent leur évolution. Pour tenter une telle analyse nous avons, au moyen de tumeurs d'ascite et d'un procédé moderne de fluorochromation, mis au point une méthode qui permet de suivre la cinétique des effets à distance en fonction de différentes conditions expérimentales.

Les effets à distance résultent d'une multitude de processus partiels inconnus. Dans la partie expérimentale de notre étude, nous les traiterons néanmoins comme un phénomène simple.

Même la connaissance de tous les processus partiels qui s'effectuent dans l'organisme irradié nous renseignerait probablement moins sur la nature des effets à distance que l'observation de paramètres qui, en traduisant un grand nombre de processus partiels inconnus, permettent de suivre la cinétique de la toxicose consécutive à l'irradiation, de préciser les rapports entre cette toxicose et le système endocrinien, et de révéler l'existence de mécanismes protecteurs dans l'organisme irradié.

PLAN DE L'ÉTUDE

Première partie

BRÈVE REVUE DES TRAVAUX RELATIFS AUX EFFETS A DISTANCE

I. Quelques protocoles expérimentaux pour la mise en évidence des effets à distance	7
II. Terminologie	8
III. L'intérêt des effets à distance en tant que « moyen d'observation »..	8

Deuxième partie

LA TOXICOSE CONSÉCUTIVE A L'IRRADIATION L'ÉTUDE DE SON ÉVOLUTION AU MOYEN DES EFFETS A DISTANCE

I. Introduction : expérience de base : techniques expérimentales qui en découlent. Définition du terme « radiotoxines »	11
II. Les tumeurs d'ascite et leur intérêt pour l'étude des effets à distance.	11
III. L'effet Strugger	15
IV. Différences entre la radiolésion locale et l'effet à distance dans la tumeur d'Ehrlich de la souris	17
1° Comparaison entre l'action des rayons X et du choc photodynamique sur cette tumeur	17
2° Le diagramme Strugger (tumeur d'Ehrlich) de la souris sur-rénalectomisée ayant subi un choc photodynamique	20
V. La radiotoxicoe et le système réticuloendothélial	23
1° Introduction	23
2° Le blocage du système réticuloendothélial	23
3° Influence du blocage du système réticuloendothélial sur le diagramme Strugger de la tumeur A-A du rat Wistar ayant subi un choc photodynamique	25
4° Effets à distance dans le rat en parabiose	28
a) Introduction	28
b) Conditions expérimentales. L'opération de parabiose. Répartition des parabionts, comportement des témoins.	29
c) Technique d'irradiation	30
d) Résultats	31
e) Discussion	35
f) Complément : La chute du poil du rat en parabiose non irradié	35

VI. L'influence du blocage du système réticuloendothélial sur la mortalité des rats et des souris irradiés aux rayons X	37
1° Introduction	37
2° Protocoles expérimentaux	37
3° Discussion	40
RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.....	41
BIBLIOGRAPHIE	43

PREMIÈRE PARTIE

REVUE D'ENSEMBLE DES TRAVAUX RELATIFS AUX EFFETS A DISTANCE DISCUSSION DES RÉSULTATS

I. — *Quelques protocoles expérimentaux pour la mise en évidence des effets à distance*

Dans ces dernières années, un certain nombre d'auteurs ont montré que tout rayonnement agissant sur un organisme multicellulaire peut produire des lésions dans des volumes tissulaires qui n'ont pas absorbé l'énergie radiante.

Les protocoles expérimentaux qu'ils ont utilisés pour mettre en évidence de telles lésions éloignées du siège de l'action locale du rayonnement sont très variés.

C'est ainsi que Van Dyke et Huff étudient les lésions des animaux associés par parabiose dont l'un sur les deux seulement a été irradié ;

Gerebtzoff et Herve, en 1949, s'attachent à mettre en évidence les altérations des tissus non irradiés des animaux ayant subi une irradiation partielle ;

Snider et Raper, en 1951, en utilisant un rayonnement non pénétrant, découvrirent des lésions dans les structures profondes d'animaux qui avaient subi une irradiation totale ;

Kelly et Jones obtinrent des lésions au sein de tumeurs expérimentales d'animaux dont le système réticulo-endothélial hépatique et splénique avait été chargé des particules d'un matériel émettant des rayons beta mous, entièrement absorbés au niveau de ces organes ;

Plus démonstrative encore est l'expérience d'Edelman qui provoqua le syndrome d'irradiation chez des animaux qui avaient reçu par voie intraveineuse du sang d'animaux irradiés ;

Jolles souligna le fait que l'on peut accentuer l'effet d'une irradiation locale par l'irradiation simultanée d'un champ voisin ;

Mais c'est à Boiron, Paoletti et Tubiana que l'on doit le contrôle des effets plus marqués d'une irradiation locale lorsque celle-ci a été réalisée au cours d'une irradiation totale ;

Stenstrom, Vermund, Musser et Marrin notèrent l'apparition de lésions dans les tissus greffés en des régions préalablement irradiées et Ludwig, en 1957 (b), généralisa le résultat en mettant en évidence l'existence de lésions dans les structures greffées dans des organismes qui avaient subi une irradiation totale ;

Un dernier fait, enfin, souligne l'importance de la question des effets à distance : Ludwig, en 1957 (c), constata que l'irradiation sélective de certains tissus radio-résistants par une dose donnée, n'entraîne chez eux aucune modification, mais que par contre la même dose, appliquée à l'organisme entier, fait apparaître des lésions dans les mêmes tissus.

II. — Terminologie

Tous ces phénomènes de lésions éloignées du siège de l'action locale du rayonnement sont appelés ici « effets à distance ». Le terme « effet indirect » employé par un certain nombre d'auteurs a maintenant un sens différent, qui relève de la théorie selon laquelle les effets biologiques des rayonnements ionisants s'obtiennent par l'intermédiaire des produits d'ionisation de l'eau (Bacq, 1951 ; Guzman Barron, 1955 ; Ebert, 1955). L'ensemble des altérations que provoquent les rayonnements dans les organismes multicellulaires peut être représenté par le schéma de la Fig. 1.

Les phénomènes qui nous préoccupent dans le présent travail, s'inscrivent dans le cadre des « effets secondaires », et puisque les expériences mentionnées au début, ainsi que les nôtres, portent sur les altérations éloignées du champ d'irradiation, notre étude se limite plus exactement aux « effets secondaires à distance ».

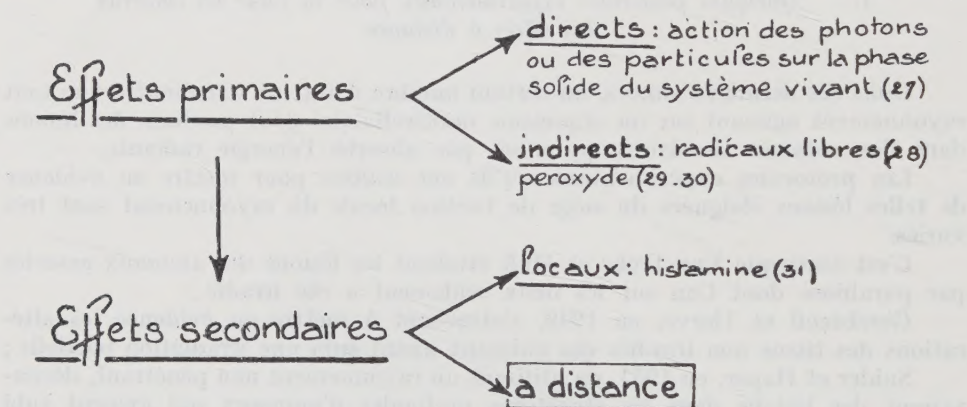


Fig. 1. — Place des effets secondaires à distance dans l'ensemble des radiolésions aiguës.

III. — L'intérêt des effets à distance en tant que « moyen d'observation »

Les premières observations sur les effets à distance (Kok, Vorlander, 1923 ; Jolly, 1923) furent une surprise pour les biologistes, bien que les radiologistes cliniciens, comme Oudin, Barthelemy, Darier et Beclere eussent déjà signalé le malaise général des malades ayant subi une irradiation importante. En morphologie, on était impressionné jusqu'alors par la nature hautement élective des effets d'irradiation, nature élective qui permet, même à l'échelle cellulaire, d'énoncer des règles d'apparence précise telles que les lois de Bergonie et Tribondeau.

Cependant, l'intérêt biologique d'un effet à distance, si inattendu qu'il fût pour les biologistes de l'époque, n'est pas tellement certain. Toute lésion locale peut porter atteinte à l'ensemble des processus partiels. Cependant, en biologie comme dans d'autres disciplines, un phénomène expérimentalement provoqué ne représente pas nécessairement la réponse à la question que l'expérimentateur se pose ; très souvent, ce phénomène est un *moyen d'observation*, créé dans le but de se renseigner sur des mécanismes qui ne sont pas accessibles autrement. De fait, la présente étude repose sur une semblable conception.

Un tel mécanisme est la toxicose générale provoquée par l'irradiation totale. Nous sommes portés à croire que les effets à distance sont l'équivalent morphologique de cette toxicose ; leur évolution reflète celle de cette dernière. Il est possible de conduire l'observation des effets à distance de telle manière que l'évolution de la toxicose et l'épuration des substances qui la provoquent, puissent être suivies par des mesures successives.

DEUXIÈME PARTIE

LA TOXICOSE CONSÉCUTIVE A L'IRRADIATION. L'ÉTUDE DE SON ÉVOLUTION AU MOYEN DES EFFETS A DISTANCE

I. — Introduction : expérience de base : techniques expérimentales qui en découlent. Définition du terme « radiotoxines »

En 1951, Raper, Zirkle et Barnes ont étudié l'effet des doses léthales du rayonnement beta du radiophosphore chez différents Mammifères de laboratoire (Raper, Zirkle, Barnes, 1951). Ce rayonnement est absorbé au niveau de la peau. Pour expliquer la mort provoquée par l'action d'un rayonnement non pénétrant, on peut, d'après ces auteurs, invoquer l'un des deux mécanismes suivants :

- 1° la destruction d'un organe d'importance vitale, la peau ;
- 2° la production au niveau de la peau, de substances qui engendrent une intoxication fatale pour l'animal.

Le choix de l'un des deux mécanismes possibles pour expliquer l'effet du rayonnement se déduit de la comparaison, pour un effet biologique donné (la mort de l'animal), de la quantité d'énergie radiante absorbée lors de l'irradiation beta avec celle absorbée lors d'une irradiation gamma. Si cette quantité d'énergie absorbée lors de l'irradiation gamma est du même ordre de grandeur chez les différents Mammifères (Rajewsky, Aurand, Hug, Mergler, Pauly, Schraub, Six, Wolf, 1954), par contre il n'en est pas de même dans le cas de l'irradiation beta : la dose mortelle dépend de la relation surface/volume de l'espèce considérée. Plus la surface est grande par rapport au volume de l'animal, moins la dose mortelle est importante ; autrement dit, la quantité d'énergie nécessaire pour tuer un animal augmente avec le volume de celui-ci (Raper, Zirkle, Barnes, 1951). Raper, Zirkles et Barnes, ainsi que d'autres radiobiologistes, en ont déduit que la mort provoquée par l'irradiation totale par un rayonnement non pénétrant s'explique par une intoxication (Curtis, 1951).

On peut admettre que la toxicose qui entraîne la mort dans ces expériences et celle qui se traduit par les effets à distance analysés plus haut, sont identiques. Les effets à distance, pourrait-on dire, sont l'équivalent morphologique d'un mécanisme qui domine le syndrome d'irradiation dans certains cas bien définis tels que l'irradiation totale par des rayonnements non pénétrants et l'irradiation partielle par des rayonnements pénétrants.

Pour réaliser les irradiations par un rayonnement non pénétrant, nous avons utilisé la lumière visible appliquée à un organisme photosensibilisé. Les mécanismes qui sont à l'origine des effets locaux de l'action photodynamique diffèrent, il est vrai, de ceux produits par les rayonnements ionisants ; mais nos propres expériences, ainsi que celles d'autres auteurs, ont montré que les effets de la lumière visible ou des rayons ultra-violet (agissant sur un organisme sensibilisé), correspondent à ceux observés après l'action locale d'un rayonnement ionisant.

Comme nous l'avons souligné plus haut, les effets à distance peuvent être un moyen d'observation, « créé dans le dessein de se renseigner sur des mécanismes qui ne sont pas accessibles autrement ». L'intoxication consécutive à l'irradiation est évidemment un tel « mécanisme » ; son analyse ne peut se faire qu'à travers un phénomène secondaire, les effets à distance. Cependant, une étude ayant pour but de suivre cette toxicose à travers les effets à distance ne peut pas se limiter à la simple mise en évidence de ceux-ci ; il faut que l'on puisse la suivre par des mesures qui permettent une appréciation quantitative du phénomène.

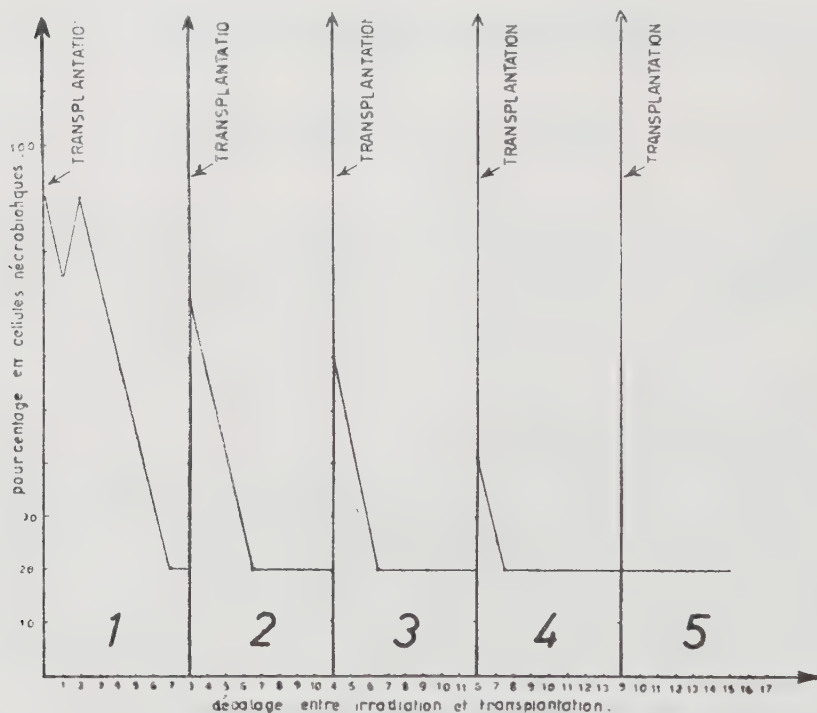


Fig. 2. — Évolution d'un effet à distance en fonction du temps. Tumeur d'Ehrlich de la souris. Influence du choc photodynamique sur le pourcentage des cellules nécrobiotiques de la tumeur. Ce pourcentage est, chez les contrôles non traités, de l'ordre de 20 %. La deuxième élévation de la courbe traduit l'effet du contre-choc surrénalien.

Pour y parvenir, nous proposons l'utilisation de tumeurs d'ascite, dans lesquelles, grâce à un procédé que nous exposerons plus loin, on peut suivre l'évolution du nombre des cellules nécrobiotiques en fonction de différentes conditions expérimentales.

L'irradiation à la lumière visible (après photo-sensibilisation) produit un effet à distance appréciable au niveau d'une tumeur d'ascite (Fig. 2), analogue à celui que nous avons pu vérifier dans la variante solide du sarcome de Yoshida (Ludwig, 1957).

Expérience de base

Cette expérience porte sur 50 souris blanches adultes (mâles), divisés en 5 lots de dix animaux. On inocule à chaque animal 0,5 ml de liquide d'ascite tumorale (Ehrlich) par voie intrapéritonéale.

Ensuite, on provoque chez ces souris un choc photo-dynamique. A cet effet, la souris reçoit, par voie intraveineuse (veine de la queue), 0,25 ml d'une solution d'éosine à 0,25 % rendue isotonique par le NaCl. Après cette injection, un lot de dix animaux est irradié pendant 40 min. au moyen d'une lampe Philips HP 125, 120 watts, à une distance de 90 cm., filtre de verre ordinaire de 15 mm. d'épaisseur (Blum, 1939).

Environ six heures après l'irradiation, on prélève chez ces souris du liquide d'ascite pour y déterminer le pourcentage des cellules nécrobiotiques. On répète ces numérations quotidiennement jusqu'à la mort de l'animal, due à la cachexie tumorale (8-12 jours après l'inoculation de l'ascite tumorale). La courbe obtenue à partir d'un lot est la moyenne de celui-ci. Le procédé employé pour distinguer les cellules nécrobiotiques des cellules vivantes sera exposé dans un chapitre particulier (cf. pag. 12).

Les 5 lots à dix animaux sont répartis de la façon suivante :

Lot n° 1. — Le choc photodynamique est réalisé 24 heures après l'inoculation de la tumeur d'ascite (Fig. 2, courbe 1).

Lot n° 2. — Le choc photodynamique est réalisé 3 jours avant l'inoculation de la tumeur d'ascite (Fig. 2, courbe 2).

Lot n° 3. — Le choc photodynamique est réalisé 4 jours avant l'inoculation de la tumeur d'ascite (Fig. 2, courbe 3).

Lot n° 4. — Le choc photodynamique est réalisé 6 jours avant l'inoculation de la tumeur d'ascite (Fig. 2, courbe 4).

Lot n° 5. — Le choc photodynamique est réalisé 9 jours avant l'inoculation de la tumeur d'ascite.

Résultat : Dans le lot n° 1, le pourcentage initial en cellules nécrobiotiques de la tumeur est de 90 % environ, dans le lot n° 2, de 70 % environ, dans le lot n° 3, de 60 %, dans le lot n° 4, de 40 % environ, dans le lot n° 5, ce pourcentage correspond à celui trouvé chez des animaux non traités. Plus le décalage entre l'irradiation et l'inoculation de la tumeur d'ascite augmente, plus le pourcentage en cellules nécrobiotiques de la tumeur baisse. Il apparaît ainsi que, dans des conditions d'irradiation identiques, l'action radiotoxique a une intensité et une durée constantes.

Cette observation est la base essentielle d'une série d'expériences que nous exposerons au cours de cette étude ; pour l'instant, nous insistons sur ses aspects purement méthodologiques : la tumeur d'ascite, dans l'expérience que nous venons d'analyser, joue le rôle d'un instrument de mesure sensible à l'action radiotoxique.

Nous appelons « radiotoxines » l'ensemble des substances apparaissant au niveau du tissu irradié et qui peuvent provoquer des lésions ailleurs qu'à l'endroit de leur formation. Ce terme, utilisé par un certain nombre d'auteurs (Caspari,

1924, cit. d'après Dessauer, 1954 ; Feine et Hug, 1957), n'implique pas que ces substances soient chimiquement différentes de celles produites par d'autres agents traumatisants ni que leur action, dans un cas donné, puisse être distinguée des substances qui s'élaborent ailleurs qu'à l'endroit de l'action locale du rayonnement.

De plus, il est concevable, quoique peu probable, que l'action radiotoxique, à l'endroit où se révèle l'effet à distance, se traduise par un phénomène de carence plutôt que par la présence d'une « toxine ». Dans l'état actuel des choses, le terme « radiotoxines » implique donc une hypothèse.

Les expériences dont l'exposé suit ont pour but de la confirmer.

II. — *Les tumeurs d'ascite et leur intérêt pour l'étude des effets à distance*

Dans ces expériences, les tumeurs d'ascite jouent un rôle essentiel. C'est pourquoi nous allons d'abord définir cette catégorie de tumeurs ainsi que les techniques que nous utilisons pour y suivre l'action des radiotoxines.

La tumeur d'ascite spontanée est un dérivé du mésothélium péritonéal. Elle suppose la présence de deux types de cellules entre lesquels existe un équilibre biologique : celles qui entraînent l'ascite par obstruction des vaisseaux lymphatiques de la séreuse et celles qui peuvent vivre et se diviser en flottant dans l'ascite (Goldie, 1955). C'est l'existence de cette dernière catégorie de cellules qui distingue la tumeur d'ascite de la carcinomatose péritonéale. Malgré les mitoses que l'on constate dans les cellules desquamées de la carcinomatose péritonéale, la continuité de cette tumeur n'est pourtant assurée que par les plaques néoplasiques installées au niveau du péritoine (Roussy, Leroux, Oberling, 1950). La carcinomatose péritonéale s'observe chez tous les mammifères alors que les tumeurs d'ascite sont propres aux rongeurs, notamment à la souris et au rat.

En dehors des tumeurs d'ascite spontanées, on a pu, au moyen de transplantations successives, faire passer d'autres tumeurs à l'« état liquide ». Cette transformation est facile avec les tumeurs d'origine lymphatique, difficile sinon impossible avec les épithéliomas (Klein, 1955).

Dans les expériences exposées au cours de cette étude, nous avons utilisé la tumeur d'Ehrlich de la souris et la tumeur A-A du rat Wistar (Aptekman et Bogden, 1955). Cette dernière tumeur, inoculée aux animaux de la souche dans laquelle elle a pris naissance, donne des résultats plus précis que la variante liquide du sarcome de Yoshida. La tumeur de Yoshida montre souvent une régression spontanée. Ce comportement la rend impropre à des expériences requérant une distinction valable entre les régressions spontanées et expérimentalement provoquées.

Les tumeurs d'ascite consistant en des suspensions de cellules pathologiques assez fragiles, on peut se demander si de telles tumeurs représentent un moyen sûr d'études des radiotoxines. En faveur d'une réponse favorable, nous insistons sur les arguments suivants :

1° C'est précisément la fragilité de ces cellules qui les rend sensibles à l'action radiotoxique.

On sait par contre que des cellules normales en suspension, comme les leucocytes du sang, ne présentent pas d'altérations à la suite d'une irradiation totale par un rayonnement non pénétrant (Raper, Barnes, 1951).

2° Les tumeurs d'ascite, du fait qu'elles sont accessibles à des procédés de numération, servent déjà depuis quelque temps à toutes sortes d'études requérant l'appréciation quantitative d'effets toxiques (Patt, 1955 ; Kaltenbach, 1955 ;

Klein, 1956), en particulier de ceux des substances cytostatiques (Druckrey, 1955; Druckrey, 1956).

3° Comme le fait ressortir l'expérience de base exposée plus haut, la tumeur d'ascite, pendant la période entre l'inoculation et la mort de l'animal porteur, reflète l'évolution de l'action radiotoxique.

Les tumeurs d'ascite utilisées dans cette étude, inoculées à des animaux normaux, contiennent environ 15-20 % de cellules nécrobiotiques. Ce pourcentage reste constant pendant la période entre l'inoculation et la mort de l'animal porteur.

Si l'on vérifie ce pourcentage avant la réalisation du choc photodynamique, on constate que l'effet à distance atteint son maximum déjà au bout d'une heure après l'irradiation.

Pour produire un tel effet au moyen des rayons ultra-violet, on supprime le filtre de verre de la lampe à vapeur de mercure ainsi que l'injection préalable d'un colorant fluorescent à l'animal considéré. Nous avons constaté qu'un effet à distance appréciable obtenu par l'action cutanée des rayons ultra-violet de la lampe HP 125, exige des irradiations de plusieurs heures. C'est pourquoi nous préférons, pour l'étude de l'action radiotoxique au niveau d'une tumeur d'ascite, le choc photodynamique plutôt que l'action des rayons ultra-violet.

III. — *L'effet Strugger*

Comme le montre l'expérience de base mentionnée plus haut, nos études s'appuient sur l'évolution du nombre des cellules nécrobiotiques de la tumeur d'ascite. L'étude de ce paramètre suppose une technique qui permette de constater la mort cellulaire suffisamment vite pour rendre possible le dénombrement d'un grand nombre d'étalements de la tumeur d'ascite.

La vérification de la mort cellulaire par un procédé de coloration est, chez beaucoup d'auteurs, jugée avec une certaine réserve (Klein, 1956). Nous avons néanmoins, au cours de milliers d'expériences effectuées depuis plusieurs années, obtenu des résultats précis à l'aide d'une technique fondée sur la relation existant entre l'adsorption d'un colorant fluorescent par le cytoplasme et la vitalité de la cellule (effet Strugger).

Strugger a montré que le protoplasme mort ou traumatisé peut adsorber une quantité de 3,6-tetraméthyl-diaminoacridine (orange d'acridine) supérieure à celle adsorbée par le protoplasme vivant et intact (Strugger, 1949 ; Strugger, 1950 ; Strugger, 1951). On distingue cette différence de concentration, qui est de l'ordre d'un facteur 10 (Koelbel, 1947), par le fait que les solutions ioniques du colorant émettent, sous l'action de la lumière ultra-violette, une lumière dont la longueur d'onde dépend de la concentration de la solution (Koelbel, 1947 ; Strugger, 1940). La fluorescence des solutions concentrées est rouge alors que celle des solutions à concentration faible est verte.

Il est légitime de se demander si la concentration protoplasmique du 3,6-tetraméthyl-diaminoacridine reflète effectivement les processus caractéristiques de la nécrobiose. Goessner a montré que l'effet Strugger ne peut pas être obtenu dans des cellules ayant subi l'action de la ribonucléase.

Il ressort des travaux récents de Schummelfeder que le taux de fixation de l'orange d'acridine sur les acides nucléiques est directement lié à leur degré

de polymérisation et que les acides nucléiques se dépolymérisent lors de la nécrobiose de la cellule.

La vérification de la mort cellulaire a été également faite par des mesures de fonctions partielles de la cellule, notamment de l'activité de la succinoxidase (Laws, Stickland, 1956), de la DNPH cytochrome C réductase (George, Friedman, Byers, 1954), de l'incorporation de l'acétate marqué au C-14 dans le cholestérol (Lata, Reinertson, 1957), et de l'incorporation du sulfate marqué au S-35 dans la cellule (Carrian, Gibson, 1956). Les résultats obtenus par la mesure de ces différents paramètres ne sont pas toujours concordants ni entre eux ni avec ceux obtenus par l'observation de l'effet Strugger (Chevallier, Communication personnelle).

Cet état de choses, à notre avis, ne justifie pas les objections que l'on peut opposer à ces différentes méthodes ; il montre seulement que la notion même de la mort cellulaire est imprécise. Notre appréciation de la technique fondée sur l'effet Strugger est empirique. De nombreuses expériences nous ont montré que la chaleur, le séchage, l'action des détergents ainsi que celle des fixateurs utilisés en histologie, provoquent la fluorescence rouge de la cellule. De plus, les tumeurs d'ascite dans lesquelles le pourcentage des cellules Strugger-positives (= nécrobiotiques) dépasse 80 %, ne peuvent plus être transplantées, et l'hétérotransplantation de l'ascite tumorale, qui se termine habituellement par la résorption du transplant, fournit des prélèvements presque entièrement Strugger-positifs.

Ce sont Krebs et Gerlach qui ont proposé pour la première fois l'utilisation de l'effet Strugger pour la détection des radiolésions dans les tissus végétaux. Strugger lui-même a fait des études sur les radiolésions des tissus végétaux, études fondées sur l'utilisation de son test. Depuis 1953, nous avons utilisé le procédé, adapté au matériel animal en survie, pour vérifier des radiolésions au niveau de l'épithélioma d'Ehrlich de la souris et de la tumeur A-A du rat Wistar.

Conditions expérimentales : Le liquide d'ascite prélevé sur l'animal (par ponction : 0,25-0,5 ml) est mélangé à parties égales avec une solution aqueuse d'orange d'acridine 1 : 5000, rendue isotonique par le NaCl. Après 4 min. de contact, on arrête la coloration en diluant 25 fois avec du sérum physiologique. Une goutte du mélange ainsi obtenu est étalée sur lame. Ensuite, on examine cette lame couverte par lamelle au microscope à fluorescence.

On rapporte le nombre des cellules Strugger-positives à 100 cellules dénombrées. Les numérations individuelles reflètent une dispersion sensible. C'est pourquoi nous déterminons, pour établir des courbes comme celles de la Fig. 3, la moyenne de dix numérations successives.

Ce procédé révèle, dans la souris porteuse d'une tumeur d'Ehrlich, la présence de 20 % de cellules Strugger-positives, alors que la tumeur A-A du rat Wistar en présente 25 %.

Il faut ajouter qu'on constate parfois, dans les tumeurs d'ascite de souris non traitées, un pourcentage en cellules Strugger-positives exceptionnellement élevé. Ce phénomène est peut-être dû à une infection latente par le virus de l'ectromélie. Selby et ses collaborateurs, au moyen du microscope électronique, ont mis en évidence le virus de cette maladie dans les cellules de la tumeur d'Ehrlich. Les animaux présentant ce phénomène ont été éliminés des lots considérés. Dans la tumeur A-A du rat Wistar non traité, nous n'avons jamais trouvé plus que 25 % de cellules nécrobiotiques.

L'évolution du pourcentage des cellules Strugger-positives au cours de l'expérience permet d'établir une courbe pour laquelle nous proposons le terme « diagramme Strugger ». En ordonnée est porté le pourcentage de la tumeur en cellules

Strugger-positives, en abscisse le temps. Les moyennes trouvées pour les animaux d'un lot sont inégales. Ceci rend nécessaire de procéder à l'analyse statistique de ces numérations.

L'analyse statistique dont il est fait état consiste essentiellement dans l'appréciation d'un intervalle de confiance basé sur le calcul de l'écart type attaché à chacune des moyennes trouvées. Ce dernier a été calculé à partir de l'ensemble des mesures de chaque catégorie (Rayons X-effet photodynamique-contrôles) rapportée à la moyenne propre du groupe (1^{er} jour... 2^e jour...) auquel elles appartiennent. Les limites 5 % et 50 % sont tirées de la table « t » de Fisher.

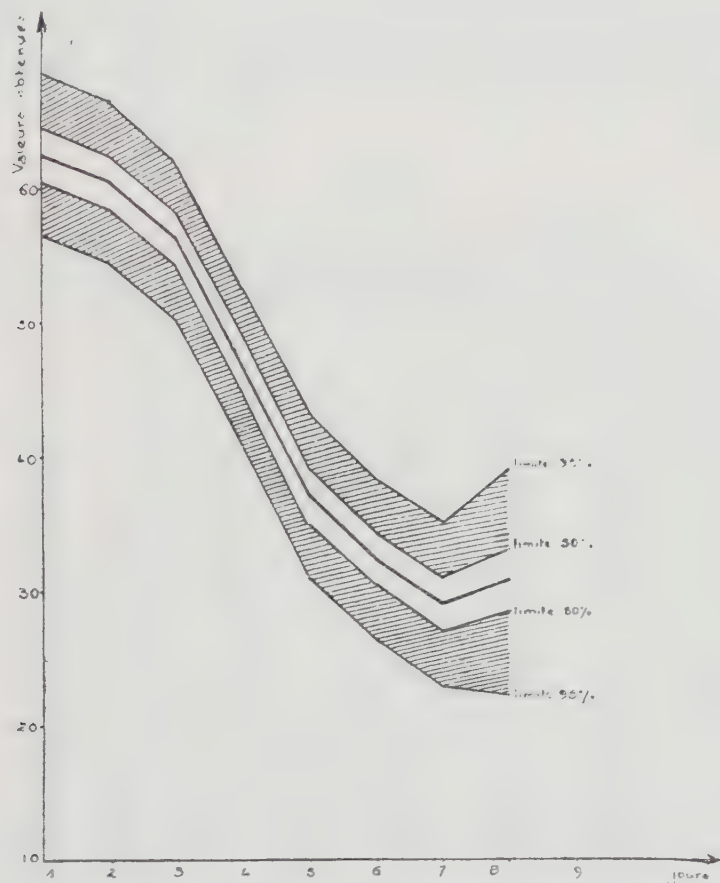


Fig. 3. — Effet de 280 r de rayons gamma (radiocobalt) sur la tumeur d'Ehrlich. En ordonnée est porté le pourcentage de la tumeur en cellules Strugger-positives, en abscisse la durée de l'expérience en jours.

IV. — Différences entre la radiolésion locale et l'effet à distance dans la tumeur d'Ehrlich de la souris

1^o Comparaison entre l'action des rayons gamma et du choc photodynamique sur cette tumeur.

L'irradiation de la souris par une dose de 280 r de rayons gamma du radio-

cobalt (1,2 mev) et le choc photodynamique produisent chacun une augmentation significative du pourcentage des cellules Strugger-positives de la tumeur d'Ehrlich inoculée aux animaux des deux lots.

Protocole expérimental: Cette expérience porte sur un ensemble de 50 souris blanches adultes (mâles), divisé en deux lots de chacun 25 animaux. Chaque animal reçut par voie intrapéritonéale 0,5 ml de liquide d'ascite tumorale (Ehrlich). 72 heures après l'inoculation, le premier des deux lots fut irradié aux rayons gamma, alors que le deuxième fut soumis au choc photodynamique.

Technique de l'irradiation aux rayons gamma: comme source de rayons gamma nous avons utilisé un cylindre carré de 12×12 mm. de radiocobalt, qui avait au moment de l'irradiation une activité de 44 Curie. Les souris furent irradiées dans des cages faites de lames métalliques de 1 mm. d'épaisseur, à une distance de 1 m. de la source.

Résultat :

EFFET DU RADIOCOBALT SUR L'ÉVOLUTION DU POURCENTAGE EN CELLULES STRUGGER-POSITIVES DE LA TUMEUR D'EHRlich. VALEURS TROUVÉES

Souris	1	2	3	4	5	6	7	8	
1 ^{er} jour	48,3	62,3	70,4	80,3	50,9	67,3	61,2	70,8	
2 ^e —	60,0	68,2	70,1	41,2	52,6	47,3	68,9	69,2	
3 ^e —	44,4	55,1	61,2	80,3	48,2	50,1	52,3	60,2	
4 ^e —	38,3	44,2	49,1	50,2	33,4	40,2	40,9	51,3	
5 ^e —	28,9	33,4	40,3	44,9	39,4	38,3	50,1	30,2	
6 ^e —	35,8	30,4	41,2	28,9	44,3	20,9	29,9	32,1	
7 ^e —	28,2	31,9	33,4	24,3	33,1	35,2	24,3	18,0	
8 ^e —	30,3	37,4	29,9	mort	30,2	36,7	36,9	28,3	
Souris	9	10	11	12	13	14	15	16	
1 ^{er} jour	90,0	61,2	61,3	73,4	68,8	47,2	52,3	48,8	
2 ^e —	51,2	54,3	46,9	69,1	64,3	63,5	60,0	55,2	
3 ^e —	52,3	52,8	52,4	60,0	48,2	47,9	49,1	55,2	
4 ^e —	41,2	30,0	35,2	38,9	38,9	63,8	47,2	50,1	
5 ^e —	29,6	33,4	37,8	60,0	29,9	34,2	40,8	45,2	
6 ^e —	30,8	37,7	40,2	29,3	31,8	34,3	32,8	37,9	
7 ^e —	25,6	27,3	26,9	38,9	39,2	24,0	25,2	31,2	
8 ^e —	mort	27,4	22,3	mort	30,8	34,2	21,9	18,0	
Souris	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1 ^{er} jour	51,2	58,2	—	74,7	51,2	66,3	81,2	58,9	55,2
2 ^e —	41,8	62,3	60,2	52,3	55,8	60,2	58,9	55,2	48,3
3 ^e —	50,0	50,2	57,3	58,2	32,9	44,2	40,8	49,2	50,1
4 ^e —	50,3	50,9	33,2	28,9	33,9	49,3	50,1	55,3	38,9
5 ^e —	31,3	34,2	31,6	32,2	39,3	33,2	39,8	44,8	32,6
6 ^e —	28,2	27,3	40,0	24,4	30,3	31,2	30,0	28,9	27,1
7 ^e —	33,3	26,6	27,3	22,8	30,7	22,4	33,8	29,6	27,2
8 ^e —	34,8	28,9	29,3	30,0	25,5	—	—	—	—

Le pourcentage initial en cellules Strugger-positives redescend donc aux valeurs de contrôle en une semaine environ (cf. Fig. 2, 3, 4).

**CHOC PHOTODYNAMIQUE. ÉVOLUTION DU POURCENTAGE
EN CELLULES STRUGGER-POSITIVES
DE LA TUMEUR D'EHRlich. VALEURS TROUVÉES**

Souris	1	2	3	4	5	6	7	8
1 ^{er} jour	80,2	70,9	70,6	70,3	70,1	60,8	60,5	60,2
2 ^e —	60,7	60,4	60,2	60,1	50,9	50,4	40,9	40,5
3 ^e —	60,3	60,1	50,9	50,7	50,5	50,3	50,2	50,0
4 ^e —	60,0	50,8	50,6	50,4	50,2	50,1	40,9	40,7
5 ^e —	20,5	20,9	30,1	30,3	30,4	30,6	30,7	30,8
6 ^e —	20,9	30,0	30,1	30,2	30,4	30,8	30,9	40,2
7 ^e —	20,0	20,3	20,5	20,9	30,1	30,4	30,5	30,3

Souris	9	10	11	12	13	14	15	16
1 ^{er} jour	50,9	50,6	50,3	50,1	40,7	40,4	80,7	80,4
2 ^e —	40,0	50,9	50,8	50,4	50,2	50,0	20,9	30,2
3 ^e —	40,9	40,7	60,4	60,7	70,0	70,3	60,4	60,7
4 ^e —	40,5	40,4	40,1	30,9	30,7	30,5	60,9	60,8
5 ^e —	40,0	40,2	40,3	40,4	40,6	40,8	50,0	50,3
6 ^e —	40,3	40,7	40,3	40,1	30,9	30,6	30,2	20,9
7 ^e —	30,1	30,0	20,8	20,7	20,6	20,4	20,3	20,2

Souris	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1 ^{er} jour	80,1	70,9	70,6	70,3	70,0	60,7	60,3	60,0	
2 ^e —	30,6	30,7	30,9	40,0	40,3	40,5	40,8		
3 ^e —	60,8	70,1	70,3	70,6	70,9	40,2			
4 ^e —	60,6	60,3	60,1	60,0	50,7	50,5	50,4	50,2	50,0
5 ^e —	40,3	40,1	30,7	30,5	30,3	30,0	20,7	20,5	
6 ^e —	20,5	20,3	20,1	10,9	20,0	20,2	20,3	20,4	20,6
7 ^e —	20,0	10,9	10,8	10,7	10,6	10,5	10,4	10,1	

Le choc photodynamique, comme nous l'avons vu plus haut, provoque donc un effet marqué au niveau de la même tumeur d'Ehrlich. Ce phénomène est comparable à celui que nous avons constaté au niveau du sarcome de Yoshida du rat photosensibilisé, irradié à la lumière visible (cf. pag. 10). Mais contrairement à la lésion histologique, l'altération de la tumeur d'ascite révèle un trait propre à l'effet à distance : après la chute initiale la courbe remonte, approchant la valeur de départ au bout de quarante huit heures.

Discussion : Quelle est la signification de cette différence entre la radiolésion locale et l'effet à distance ? Il a été déjà dit que, 48 heures après une irradiation subléthale aux rayons X, l'excrétion des corticostéroïdes dans les urines augmente (Wilhelm, 1955). Il est de même établi que les malades cancéreux ayant reçu des doses thérapeutiques de rayons X montrent une chute du taux des éosinophiles au cours de la première semaine. (Lasser, Stenstrom, 1954). De plus, avec des injections sous-cutanées uniques de 60-90 gamma d'hydrocorticotérone nous

pouvions provoquer, chez des souris porteuses d'une tumeur d'ascite, une augmentation du nombre des cellules Strugger-positives allant jusqu'à 70-80 %. La souris blanche élimine journellement 100 gamma de corticostéroïdes et 800 gamma de céstéroïdes (Wilhelm, 1955). Les quantités utilisées dans ces expériences correspondent donc à celles qui peuvent être impliquées dans la réponse surrénalienne à l'agression photodynamique. On sait depuis les travaux de Dougherty et White de 1944 que les effets cytolytiques du contre-choc sont dûs aux hormones du cortex surrénalien. Ceci renforce l'hypothèse d'après laquelle le deuxième maximum de la courbe photodynamique relève de l'action des corticostéroïdes sur la cellule tumorale.

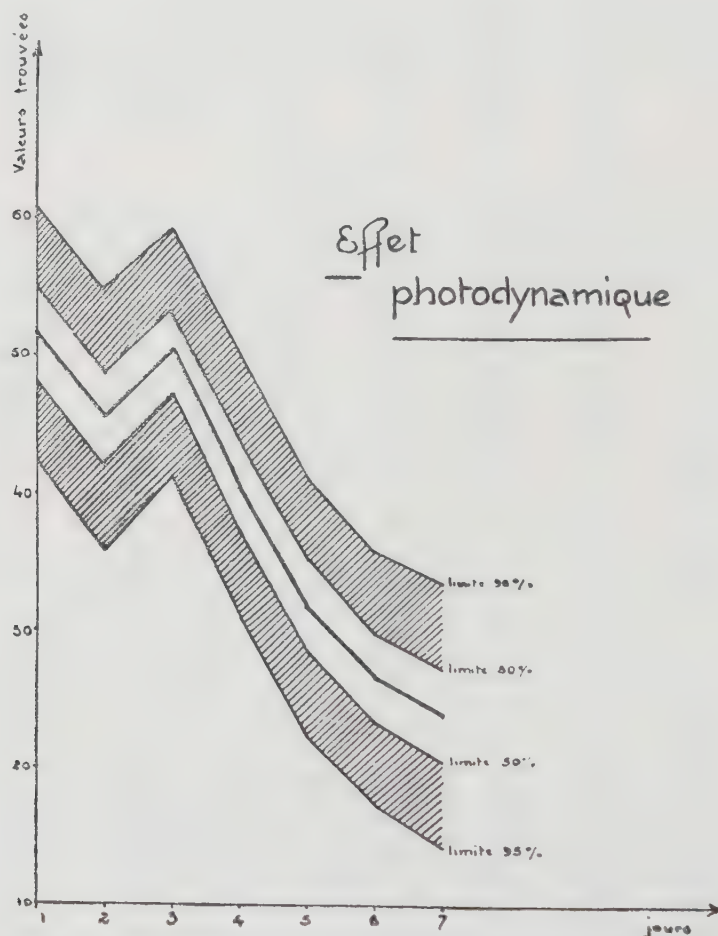


Fig. 4. — Effet du choc photodynamique sur la tumeur d'Ehrlich. Ordonnée : pourcentage de la tumeur en cellules Strugger-positives ; abscisse : durée de l'expérience en jours.

2° Le diagramme Strugger (tumeur d'Ehrlich) de la souris surrénalectomisée ayant subi un choc photodynamique.

Pour vérifier l'intervention surrénalienne dans cet effet à distance, nous avons étudié le diagramme Strugger chez la souris surrénalectomisée (Fig. 5).

Conditions expérimentales : La surrénalectomie a été pratiquée sur 31 souris blanches adultes (mâles), narcotisées par l'éther, en un temps, par voie dorsale. Elles ont été maintenues après l'opération par un régime riche en sel (eau salée à 1 %) et pauvre en potassium pendant une durée de 16 jours avant d'être mises en expérience. Des surrénales accessoires, contrairement au cas du rat, étant relativement rares chez la souris, nous avons renoncé à examiner histologiquement la graisse rétropéritonéale de la région des hiles rénaux. Par contre, les tranches du matériel prélevé lors de l'opération ont été étudiées à la loupe binoculaire en vue de déceler la présence du tissu surrénalien.

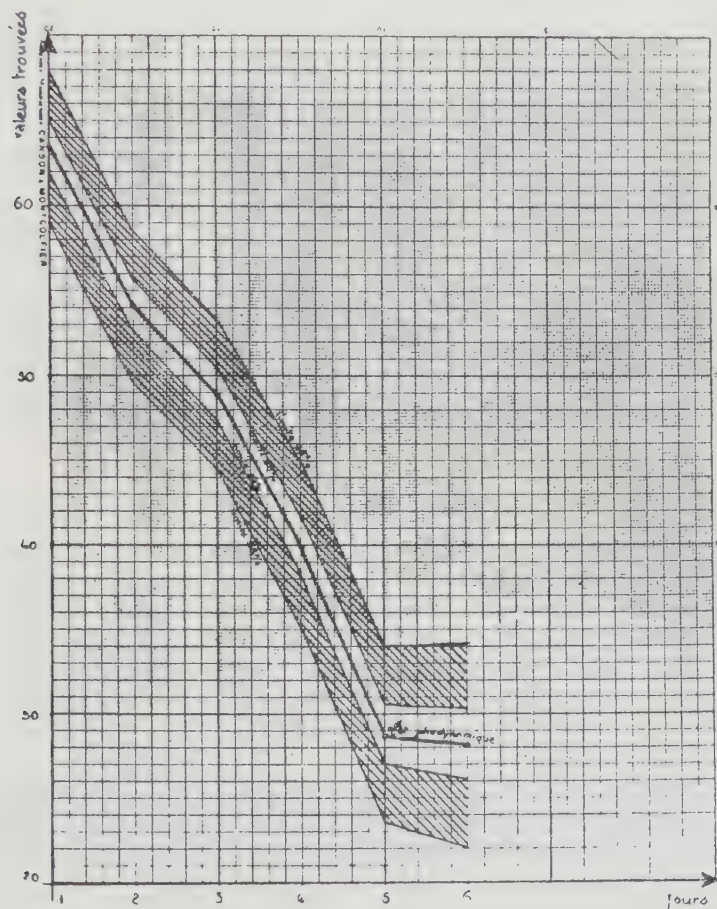


Fig. 5. — Effet du choc photodynamique chez la souris surrénalectomisée sur la tumeur d'Ehrlich. Ordonnée : pourcentage de la tumeur en cellules Strugger-positives. Abscisse : durée de l'expérience en jours.

Ces 31 souris ont été inoculées, par voie intrapéritonéale, par 0,5 ml de liquide d'ascite tumorale. 3 jours après l'inoculation, le pourcentage des cellules Strugger-positives de la tumeur a été vérifié chez 6 souris, alors que 25 animaux ont été soumis au choc photodynamique suivant la technique exposée plus haut.

Résultat: La tumeur des souris surrénalectomisées non irradiées présentait 20 % de cellules Strugger-positives.

**CHOC PHOTODYNAMIQUE. SOURIS SURRÉNALECTOMISÉE.
ÉVOLUTION DU POURCENTAGE
EN CELLULES STRUGGER-POSITIVES DE LA TUMEUR D'EHRlich.
VALEURS TROUVÉES**

Souris	1	2	3	4	5	6	7	8
1 ^{er} jour	50,1	67,8	70,2	33,4	65,3	70,1	80,2	55,8
2 ^e —	49,1	56,2	67,3	40,1	52,1	55,0	57,2	54,5
3 ^e —	48,2	54,3	46,9	55,3	54,3	48,3	50,0	50,0
4 ^e —	35,2	40,8	33,6	36,7	38,5	50,1	32,2	20,0
5 ^e —	25,3	34,2	35,1	29,1	10,0	28,8	30,1	34,2
6 ^e —	20,4	28,3	22,8	19,3	10,0	22,4	26,6	25,8

Souris	9	10	11	12	13	14	15	16
1 ^{er} jour	58,9	64,2	55,3	62,4	63,9	58,4	60,0	67,9
2 ^e —	56,0	52,3	56,3	58,1	50,3	49,2	48,2	60,0
3 ^e —	52,3	55,3	43,4	54,4	48,3	47,0	46,0	48,5
4 ^e —	45,6	46,2	48,2	33,3	40,2	28,9	33,6	35,3
5 ^e —	26,7	25,2	25,8	30,4	22,1	24,8	28,9	29,1
6 ^e —	31,2	29,3	22,3	24,5	28,9	19,2	18,2	12,0

Souris	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1 ^{er} jour	68,2	43,3	64,5	81,9	66,6	72,3	68,0	61,6	62,5
2 ^e —	55,5	52,3	57,3	50,1	53,5	52,4	50,1	49,3	62,1
3 ^e —	50,2	54,3	38,1	36,2	48,3	51,5	47,2	30,0	44,8
4 ^e —	35,6	38,4	41,4	30,9	29,8	39,2	34,6	43,8	40,0
5 ^e —	24,2	28,8	29,2	30,0	26,4	25,5	24,8	28,2	30,0
6 ^e —	22,3	23,6	25,4	26,2	27,2	21,2	22,2	23,5	20,0

Chez les souris soumises au choc photodynamique, l'aspect général du diagramme Strugger est en effet similaire à celui obtenu à partir des animaux non surrénalectomisés, mais il ne se présente pas de maximum après quarante-huit heures.

Discussion: On note, après 48 heures, une légère élévation de la courbe. Étant donnée la rareté des surrénales accessoires chez la souris, on peut penser que cette élévation est due à des surrénalectomies incomplètes, chez certains animaux opérés.

Il apparaît ainsi que la surrénale intervient dans le mécanisme de cet effet à distance, mais que son intervention est secondaire par rapport à celle des radio-toxines.

Alors que le radiophosphore et les rayons gamma agissent directement sur la suspension tumorale, le choc photodynamique agit sur elle par l'entremise des radio-toxines. L'analyse du diagramme Strugger, comme le montrent les

protocoles expérimentaux précédents, permet de révéler, dans l'ensemble des phénomènes provoqués par l'action d'un rayonnement non pénétrant, des mécanismes qui sont inaccessibles à l'étude histopathologique.

V. — *La radiotoxicose et le système réticuloendothélial*

1° Introduction.

Les expériences mentionnées plus haut sur la régression d'une tumeur d'ascite inoculée à un animal préalablement irradié, nous avaient montré que, dans des conditions d'irradiation identiques, la toxicose génératrice des effets à distance a une intensité et une durée constantes. Cette observation pose un problème essentiel : celui de la neutralisation des radiotoxines dans l'organisme irradié. De même, l'impossibilité d'obtenir des effets à distance instantanés chez le rat en parabiose dont le partenaire a été irradié, impossibilité dont nous avons parlé au début de ce travail, fait penser à un mécanisme d'épuration. Celui-ci s'opérerait évidemment plus vite que le passage des radiotoxines d'un animal à l'autre. Benacerraf, Biozzi, Halpern, Stiffel et Mouton ont pu établir récemment que la sérumalbumine dénaturée par la chaleur est phagocytée par des cellules faisant partie du système réticuloendothélial. Étant donné l'analogie qui existe entre une radiolésion locale et la dénaturation thermique des éléments tissulaires, nous avons essayé de voir si le blocage du système réticuloendothélial a une influence quelconque sur l'évolution d'un effet à distance, telle que nous pouvons la suivre au moyen d'une tumeur d'ascite. Une telle tentative pose le problème de la fonction du système réticuloendothélial et de son inhibition que nous discuterons brièvement par la suite.

2° Le blocage du système réticuloendothélial.

On sait déjà depuis trente ans que les cellules spéciales qui bordent les lacs sanguins et lymphatiques ainsi que les histiocytes du tissu conjonctif peuvent capter des microorganismes, des corps macro-moléculaires et des colloïdes introduits dans le courant sanguin. Cette activité phagocytaire confère à ces cellules, malgré la diversité des structures à la formation desquelles elles participent, l'aspect d'un ensemble bien défini pour lequel Aschoff proposa le terme « système réticuloendothélial ». Parmi toutes les fonctions attribuées à ce système de cellules, celle de la phagocytose des particules injectées par voie sanguine est la plus solidement établie. Durant les dernières années, B. N. Halpern et son école ont étudié systématiquement la cinétique de cette phagocytose en mesurant au photomètre la décroissance de la concentration sanguine des particules de carbone injectées. Ces recherches ont essentiellement montré que « l'activité phagocytaire qui atteint sa valeur théoriquement maximum au temps 0 (après l'injection de la suspension de carbone), décroît ultérieurement en fonction directe de la quantité phagocytée et en fonction inverse de la quantité de substance injectée. Autrement dit, la saturation totale ne peut pratiquement jamais être atteinte dans des conditions compatibles avec la survie de l'animal. En variant les doses de granules injectés, on n'obtient en réalité qu'une diminution plus ou moins grande de la faculté phagocytaire suivant la dose, le temps écoulé, la répétition des charges » (Halpern, Benacerraf, Biozzi, Stiffel, 1954).

En outre, la saturation temporaire et incomplète ainsi réalisée compromet d'autres fonctions que la phagocytose telle que la fonction immunitaire, la désintoxication et probablement certains métabolismes intermédiaires. La suspension

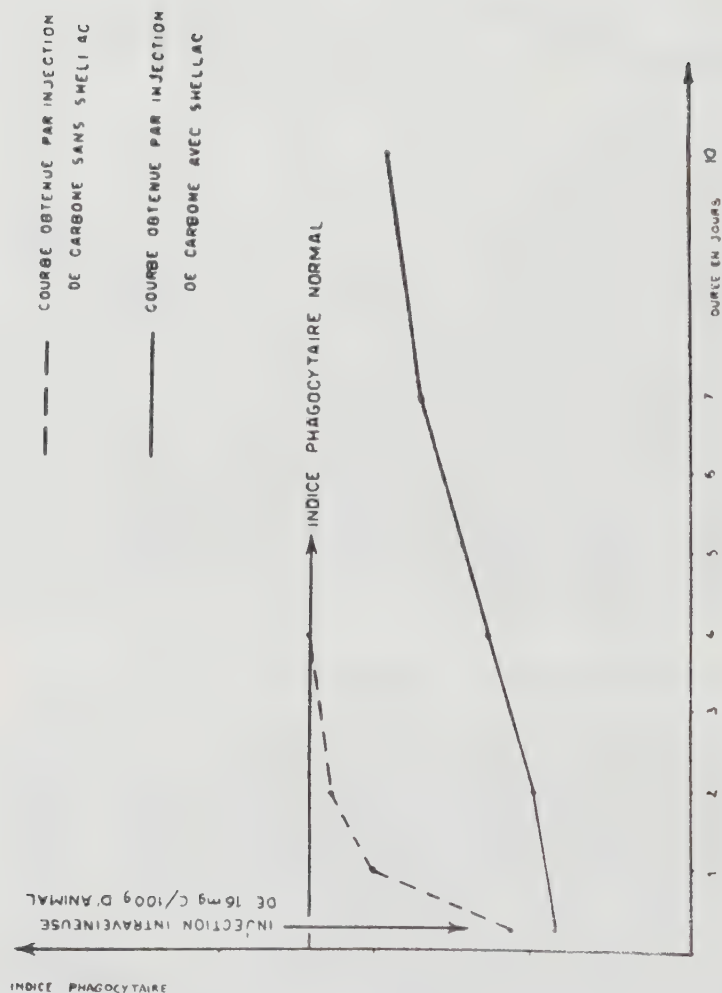


Fig. 6. — Évolution de l'indice phagocytaire à la suite de l'injection intraveineuse de 16 mg. C/100 g. animal d'après Benacerraf, Halpern, G. Biozzi, S. A. Benos. Cet indice se définit à partir de l'évolution dans le temps de la teneur du sang en particules de carbone injectées (déterminé par photométrie) en fonction de :

- 1° la quantité de carbone injectée une première fois ;
- 2° le temps qui s'est écoulé entre les deux injections.

Courbe a : effet de la suspension de carbone pure, stabilisée par la gélatine blanche ;

Courbe b : effets de la même suspension contenant les résines toxiques de l'encre de Chine commerciale.

de ces fonctions n'est pas complète, ni durable. On peut pourtant la prolonger par l'injection concomitante de *Salmonella typhi* (Biozzi, Benacerraf, Halpern, 1955), de cortisone, et des résines toxiques qui accompagnent les encres de Chine commerciales. Warner et Dobson ont finalement montré que la fonction phagocytaire du système réticuloendothélial est suspendue si les animaux ont subi des brûlures sévères. Ce dernier phénomène, à notre avis, est très voisin de l'adsorption par le système réticuloendothélial de la sérumalbumine dénaturée (Benacerraf, Biozzi, Halpern, Stiffel, Mouton, 1957) : dans les expériences de Warner et Dobson, la phagocytose des colloïdes se trouve probablement compromise parce que le système réticuloendothélial est déjà chargé des déchets tissulaires toxiques mis en circulation après les brûlures.

Conditions expérimentales : pour ce qui est des problèmes qui nous préoccupent il faut avant tout que le blocage n'entraîne pas d'altérations métaboliques qui affectent l'instrument de mesure, la tumeur d'ascite. Nous avons constaté que 16 mg carbone/100 g animal sous forme de 0,5 ml de suspension aqueuse n'augmentent pas le pourcentage en cellules Strugger-positives de la tumeur, sauf si la suspension injectée contient les résines toxiques qui accompagnent les encres de Chine commerciales. Du fait que celles-ci accentuent et prolongent le blocage du système réticuloendothélial, le blocage obtenu dans nos expériences ne dure guère plus de 3 jours (cf. Fig. 6). La suspension de carbone utilisée par nous est préparée à partir du produit 77/702 de la maison Guenther Wagner. Cette suspension contient :

Carbone	4,4 %
NaCl	0,1 %

La taille des particules est de l'ordre de 250 Angstroem. Cette solution a été stabilisée par 1,5 % de gélatine blanche, la suspension pure provoquant des embolies pulmonaires chez les animaux injectés.

3° Influence du blocage du système réticuloendothélial sur le diagramme Strugger de la tumeur A-A du rat Wistar ayant subi un choc photodynamique.

Protocole expérimental : Cette expérience porte sur 40 rats Wistar (mâles) de 250 g. Chaque animal a été inoculé par voie intrapéritonéale par 1 ml. de liquide d'ascite tumorale (A-A). 3 jours après l'inoculation, chaque rat a reçu par voie intraveineuse (veine du penis) 0,5 ml. d'une solution d'éosine à 0,25 % rendue isotonique par le NaCl. De plus, sur ces 40 animaux, 20 ont reçu, également par voie intraveineuse, une injection de 40 mg. de carbone (16 mg./100 g. animal) sous forme de 0,5 ml. de suspension aqueuse, stabilisée par 1,5 % de gélatine blanche. Ensuite on réalise chez les 40 rats un choc photodynamique suivant la technique exposée plus haut.

Résultat :

*CHOC PHOTODYNAMIQUE. TUMEUR A-A DU RAT WISTAR.
S.R.E. INTACT. ÉVOLUTION DU POURCENTAGE EN CELLULES
STRUGGER-POSITIVES DE LA TUMEUR. VALEURS TROUVÉES*

Rat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 ^{er} jour	72,3	68,9	85,6	65,2	75,3	73,9	62,4	75,3	75,9	60,5
2 ^e —	67,2	69,4	50,3	81,5	76,8	66,2	75,3	73,4	60,2	79,0
3 ^e —	70,9	72,3	81,9	72,9	69,2	80,3	85,1	91,2	71,3	79,4
4 ^e —	58,9	42,3	55,6	60,0	57,3	41,0	40,6	35,3	55,6	50,3
5 ^e —	50,3	52,4	41,3	42,9	45,9	46,1	47,7	38,9	36,4	37,8
6 ^e —	33,3	34,9	35,6	37,8	35,6	34,1	33,9	34,4	30,1	32,2
7 ^e —	29,3	33,4	28,8	30,1	25,2	27,8	21,2	25,2	25,3	28,9
8 ^e —	22,3	20,8	mort	mort	21,2	22,3	18,6	22,4	20,3	15,4
9 ^e —	mort	20,7			18,4	20,3	19,6	20,0	19,8	18,2
10 ^e —		18,2			16,2	19,9	17,2	mort	19,0	17,2
11 ^e —		mort			mort	mort	mort			

Rat	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1 ^{er} jour	72,3	72,4	80,9	68,6	96,1	78,8	67,4	70,0	74,3	75,9
2 ^e —	75,0	70,1	78,2	74,3	80,4	82,1	71,9	71,0	66,2	76,1
3 ^e —	78,5	81,3	84,3	84,2	70,9	79,8	74,3	80,5	84,3	79,8
4 ^e —	48,4	52,6	49,3	56,9	60,1	64,2	51,2	48,7	50,3	44,4
5 ^e —	40,2	45,3	38,4	38,3	40,2	43,9	38,4	45,3	40,0	32,7
6 ^e —	31,2	29,9	32,3	33,0	33,4	34,7	32,1	30,2	31,1	29,7
7 ^e —	30,2	28,9	33,4	28,9	25,0	25,0	27,3	30,2	24,8	26,0
8 ^e —	mort	mort	22,3	21,0	23,4	24,3	21,9	18,6	19,2	21,0
9 ^e —			18,9	20,0	19,3	19,3	17,2	18,2	16,0	12,7
10 ^e —			15,3	19,0	mort	mort	mort	mort	mort	mort
11 ^e —			mort	mort						

La tumeur A-A du rat Wistar, altérée à distance par le choc photodynamique, présente donc une augmentation du taux des cellules Strugger-positives dont l'évolution est comparable à celle constatée dans la tumeur d'Ehrlich de la souris (Fig. 7, courbe inférieure). La courbe, comme le montre la Fig. 7, devient plus verticale au bout de trois jours. On peut penser que ce phénomène reflète l'intervention de la corticosurrénale, qui, dans la tumeur d'Ehrlich de la souris, se traduit par une élévation bien définie.

**CHOC PHOTODYNAMIQUE. TUMEUR A-A DU RAT WISTAR
S.R.E. BLOQUÉ. ÉVOLUTION DU POURCENTAGE EN CELLULES
STRUGGER-POSITIVES DE LA TUMEUR. VALEURS TROUVÉES**

Rat	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 ^{er} jour	78,2	80,9	87,2	79,6	78,8	80,0	64,2	71,1	82,3	88,3
2 ^e —	82,3	63,2	71,3	82,4	66,2	84,3	78,9	85,2	60,0	60,3
3 ^e —	77,2	79,4	91,5	88,8	92,3	81,7	66,2	81,2	89,9	92,4
4 ^e —	68,4	72,1	60,3	64,8	66,2	78,9	57,2	81,9	mort	81,2
5 ^e —	70,3	78,2	62,4	58,9	41,3	66,2	51,2	mort		66,3
6 ^e —	mort	51,4	69,9	70,2	78,7	57,2	48,2			71,3
7 ^e —		64,2	70,3	78,9	41,0	51,2	80,0			mort
8 ^e —		51,2	48,7	55,0	59,3	48,2	41,5			
9 ^e —		39,4	43,3	mort	41,5	80,0	48,9			
10 ^e —		mort	mort		18,3	41,5	30,2			
11 ^e —						48,0				
12 ^e —						30,2				

Rat	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1 ^{er} jour	75,2	62,3	66,5	70,2	75,2	75,0	81,3	68,6	74,9	76,2
2 ^e —	58,2	72,9	74,8	70,2	81,7	82,3	61,2	62,4	71,0	68,9
3 ^e —	97,8	81,2	84,4	66,5	81,9	84,9	69,2	88,8	81,2	87,0
4 ^e —	68,3	66,2	61,5	79,3	76,6	77,7	69,2	70,3	mort	82,2
5 ^e —	72,4	48,9	81,9	70,3	87,3	71,2	68,3	51,2		38,0
6 ^e —	61,3	64,5	48,1	85,2	81,2	66,2	60,2	65,6		66,2
7 ^e —	54,2	54,3	69,4	63,3	62,5	58,3	54,6	60,2		mort
8 ^e —	49,9	53,3	64,8	71,3	41,2	33,3	28,5	48,9		
9 ^e —	50,3	66,3	33,9	58,2	48,7	51,2	22,1	18,3		
10 ^e —	mort	31,2	22,9	42,8	10,2	31,9	mort	mort		
11 ^e —				18,2						

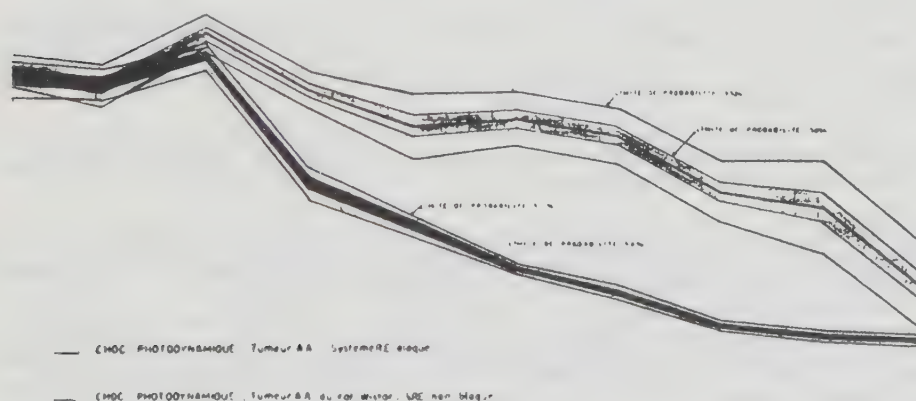


Fig. 7. — Évolution d'un effet à distance au niveau de la tumeur A-A après blocage temporaire de la phagocytose réticuloendothéliale.

Courbe inférieure: effet à distance sans blocage.

Courbe supérieure: même effet après injection intraveineuse (veine du penis) de 16 mg. C/100 g. rat en 0,5 ml. de suspension aqueuse.

Le blocage du système réticuloendothélial, réalisé chez les rats irradiés, modifie sensiblement le diagramme Strugger de la tumeur (Fig. 7, courbe supérieure), alors que le blocage sans irradiation préalable ne produit aucun effet. On peut en déduire que ce blocage entraîne une prolongation et une accentuation de l'action des radiotoxines sur cette tumeur d'ascite; autrement dit, le système réticuloendothélial semble neutraliser des fractions appréciables des radiotoxines.

Critique de ces expériences et de leur interprétation

Une telle interprétation de l'effet de la suspension de carbone injecté sur la tumeur d'ascite comporte, il est vrai, un danger. Nous savons que le carbone introduit dans le courant sanguin produit un blocage temporaire de la phagocytose réticuloendothéliale. Mais ce blocage, si bien établi soit-il, n'est peut-être pas le seul effet provoqué par le carbone; il est concevable que celui-ci, introduit dans le courant sanguin, entraîne des altérations métaboliques inconnues, qui compliquent le syndrome d'irradiation autrement que par suspension de la phagocytose réticuloendothéliale. On sait par exemple que même les agressions non spécifiques et la fatigue musculaire accentuent la mortalité des animaux irradiés (Hornykiewitsch, Sohre, Stender, 1954; Stapleton, Curtis, 1947; Quastler, 1955). Si une telle critique est parfaitement justifiée sur le plan de la logique formelle, elle l'est beaucoup moins sur le plan de l'expérience biologique. En effet, les états pathologiques accentués par l'injection des suspensions de carbone sont précisément ceux qui font appel au pouvoir de phagocytose du mésenchyme. Comme nous l'avons déjà montré, le carbone injecté influence le diagramme Strugger seulement si les animaux ont été irradiés, c'est-à-dire que *l'efficacité du carbone est liée à la présence des radiotoxines*. Ceci fait penser que l'irradiation, elle aussi, fait appel aux fonctions de phagocytose. De plus, nous savons depuis les travaux de Ruth Pinkney-Rhoades de 1948, que l'irradiation totale aux rayonnements pénétrants et non pénétrants provoque, chez le poulet, l'activation morphologiquement tangible des cellules de Kupffer (Pinkney, Rhoades, 1948). Nous avons fait la même observation chez nos rats irradiés.

Protocole expérimental: cette expérience porte sur 13 rats Wistar adultes de poids et de sexe différents. Sur ces 13 rats, 6 ont été irradiés par 800 r de rayons X (130 KV, 12 mA, 50 r/min.), 5 ont été soumis au choc photodynamique suivant la technique décrite plus haut.

50 heures après l'irradiation, les rats ont été sacrifiés. Les foies ont été prélevés, fixés au formol neutre et coupés après inclusion en paraffine. Coloration à l'hématoxyline de fer d'après Regaud.

Résultat: Les cellules de Kupffer présentent les signes morphologiques d'une activité accrue. Dans le parenchyme hépatique des animaux qui ont été irradiés aux rayons X, on constate des graves radiolésions locales.

La neutralisation de l'action radiotoxique par le système réticuloendothélial présente, nous semble-t-il, un degré de probabilité tel que nous pouvons l'admettre comme une base de l'expérimentation future, expérimentation qui nous fournira des éléments supplémentaires pour arriver à une conclusion plus précise.

4° Effets à distance dans le rat en parabiose.

a) Introduction.

Comme il a été dit plus haut, c'est non seulement la réduction progressive des radiotoxines et l'adsorption de la sérumalbumine dénaturée qui nous firent

penser à un mécanisme d'épuration, mais aussi le fait que les effets à distance instantanés sont irréalisables chez le partenaire non irradié d'un couple de rats en parabiose. Puisque les expériences précédentes semblent indiquer que des fractions importantes des radiotoxines sont neutralisées par le système réticulo-endothélial, nous avons supposé que le mécanisme d'épuration qui prévient l'apparition des effets à distance chez le rat en parabiose, est également assuré par le système réticuloendothélial. Pour provoquer l'action des radiotoxines chez le partenaire parabiontique non irradié, il faudrait donc, en dehors d'une irradiation efficace de l'autre partenaire, bloquer le système réticuloendothélial des deux animaux.

b) Conditions expérimentales. L'opération de parabiose, répartitions des parabionts, comportement des témoins.

Nos expériences portent sur 51 couples de rats mâles en parabiose (souche Wistar). L'opération a été réalisée suivant la technique classique (P. Bert, 1864 ; R. M. May, 1932), améliorée par la suture des omoplates préconisée par Sauerbruch et son école. La technique habituellement employée par les endocrinologistes prévoit la création d'une fenêtre péritonéale (Finerty, 1952 ; Zizine, 1955) permettant le contact direct des surfaces viscérales des séreuses. Pour nous, la réalisation d'une telle fenêtre est impossible en raison de la présence de la tumeur d'ascite. Celle-ci doit évidemment rester limitée à l'animal auquel elle a été inoculée sans se mélanger avec celle inoculée dans la cavité péritonéale de l'autre. C'est pourquoi nous avons suturé l'incision péritonéale de telle manière que les cavités respectives se referment.

Nos animaux ont été opérés à l'âge de trois semaines quand ils pèsent 60 g. Ils ont été narcotisés par l'injection intrapéritonéale de 0,6 ml. d'une solution saturée d'alpha chloralose. Avant et après l'opération, chaque rat reçut 40.000 U.I. de pénicilline. La mortalité fut de l'ordre de 20 %. Les parabionts ont été mis en expérience 60-70 jours après l'opération.

Les partenaires à taille inégale ont été éliminés.

L'inoculation de la tumeur d'ascite et le blocage du système réticuloendothélial ont été réalisés suivant les techniques indiquées plus haut.

- 5 couples : vérification du diagramme Strugger de la tumeur A-A transplantée sur un animal en parabiose,
- 5 couples : vérification du diagramme Strugger de la tumeur A-A transplantée sur un animal en parabiose après blocage du système réticuloendothélial des deux animaux,
- 5 couples : vérification du diagramme Strugger de la tumeur A-A d'un rat en parabiose dont le partenaire a subi un choc photodynamique,
- 5 couples : vérification du diagramme Strugger de la tumeur A-A d'un rat en parabiose dont le partenaire a subi une irradiation par 600 r de rayons X (100 KV, 12 mA, 50 r/min.),
- 12 couples : vérification du diagramme Strugger de la tumeur A-A d'un rat en parabiose dont le partenaire a subi un choc photodynamique, après blocage du système réticuloendothélial des deux animaux,
- 12 couples : vérification du diagramme Strugger de la tumeur A-A d'un rat en parabiose dont le partenaire a subi une irradiation par

600 r de rayons X (100 KV, 12 mA, 50 r/min.), après blocage du système réticuloendothélial des deux animaux,

7 couples : vérification de la chute du poil d'un rat en parabiose dont le partenaire a subi une irradiation par 600 r de rayons X (100 KV, 12 mA, 50 r/min.).

Dans le rat en parabiose, il semble que le taux des cellules Strugger-positives de la tumeur A-A est de l'ordre de 15 %, c'est-à-dire légèrement inférieur à la moyenne trouvée dans l'animal indépendant. Cependant, le nombre restreint des animaux disponibles pour les expériences de contrôle, ne nous a pas permis d'affirmer qu'il s'agit là d'un effet protecteur de la part de l'animal non irradié, tel qu'il a été constaté, au moyen d'études histopathologiques, par Finerty, Binhammer, Metz et Schneider.

Comme nous l'avons déjà vu chez les animaux indépendants, l'injection intraveineuse de 16 mg C/100 g. rat en 0,5 ml. de suspension aqueuse stabilisée par 0,01 g. de gélatine blanche, ne modifie pas le taux des cellules Strugger-positives de la tumeur A-A.

c) Technique d'irradiation.

L'irradiation exclusive d'un seul des deux rats en parabiose pose le problème de la protection de l'animal chez lequel on se propose d'observer des effets à distance. Dans ce but, nous utilisons une chambre à deux compartiments, dont les dimensions correspondent à celles des rats adultes et qui est construite de la façon suivante : la base et les deux faces antérieure et postérieure sont en plexiglas. La face antérieure présente deux évidements sur lesquels reposent les museaux des animaux. La séparation entre les deux compartiments est assurée par une paroi de laiton de 12 mm. d'épaisseur qui présente une fente rectangulaire destinée au passage du pont tissulaire entre les deux rats en parabiose. L'un des deux compartiments est recouvert sur toute sa longueur d'un couvercle de laiton de 12 mm. d'épaisseur, perpendiculaire au rayonnement incident. L'introduction de cet appareil dans un château de plomb permet, lors de l'utilisation des rayons X, d'éviter toute pénétration d'un rayonnement diffusé dans le compartiment de l'animal protégé, à l'exception de celui qui prend naissance au niveau de l'animal irradié et qui passe par la fente destinée au passage du pont tissulaire.

Pour évaluer l'importance relative de ce rayonnement, nous avons, à l'intérieur du compartiment destiné à l'animal protégé, installé trois sacs de cellophane mince, remplis de sulfate ferreux (conc. : 10^{-3} mol.), après avoir enfermé dans le compartiment d'irradiation un rat. L'un de ces sacs s'appuyait contre la fente de telle sorte que celle-ci était obstruée, le deuxième se trouvait dans le coin entre la face postérieure et celle présentant la fente, le troisième s'appuyait contre la paroi en face de cette fente.

L'application de 6000 r de rayons X (100 KV, 12 mA, 50 r/min.) au rat enfermé dans le compartiment d'irradiation, produisait, au niveau du sac obstruant la fente, un rayonnement de l'ordre de 750 r. Toutefois, étant donné la différence considérable entre l'énergie du rayonnement incident et celle du rayonnement diffusé, une telle évaluation est sujette à caution. Le contenu des deux autres sacs ne présentait aucune oxydation radiochimique mesurable. La dose prévue pour l'irradiation du rat en parabiose étant de 600 r (100 KV, 12 mA, 50 r/min.) et compte tenu de la limite de sensibilité de la dosimétrie à base de sulfate ferreux, nous admettons que le rayonnement diffusé au niveau de la

fente ne peut pas dépasser 75 r. De plus, le rayonnement diffusé, bien qu'il atteigne le pont tissulaire entre les rats en parabiose, semble trop mou pour pouvoir atteindre l'intérieur du compartiment protégé.

d) Résultats :

ÉVOLUTION DU POURCENTAGE
EN CELLULES STRUGGER-POSITIVES DE LA TUMEUR A-A
INOCULÉE A DEUX RATS WISTAR ASSOCIÉS PAR PARABIOSE.
RÉALISATION D'UN CHOC PHOTODYNAMIQUE CHEZ L'ANIMAL
GAUCHE. LE S.R.E. DES DEUX ANIMAUX EST INTACT
(Fig. 8)

Irradié						Protégé					
Couples	1	2	3	4	5	Couples	1	2	3	4	5
1 ^{er} jour	71,8	75,4	82,3	92,9	74,0	1 ^{er} jour	18,2	28,3	34,9	8,9	15,4
2 ^e —	60,2	70,0	70,0	85,2	76,7	2 ^e —	20,3	33,8	18,2	12,3	5,5
3 ^e —	75,3	77,9	70,1	65,2	91,0	3 ^e —	6,8	22,9	7,3	9,2	9,8
4 ^e —	58,3	59,9	56,2	71,2	67,8	4 ^e —	8,9	4,4	12,3	14,2	19,3
5 ^e —	48,2	55,9	60,3	49,9	47,8	5 ^e —	12,3	9,2	13,1	10,3	18,0
6 ^e —	40,2	42,7	33,8	38,9	41,2	6 ^e —	15,2	16,3	8,7	10,4	15,1
7 ^e —	35,1	28,3	38,9	31,1	29,2	7 ^e —	16,2	10,0	11,3	12,0	14,2
8 ^e —	28,2	20,3	51,2	33,2	18,9	8 ^e —	9,8	17,2	21,9	13,4	15,5
9 ^e —	20,3	15,8	18,2	22,1	12,9	9 ^e —	11,2	13,2	10,2	19,3	9,8
10 ^e —	mort	18,9	mort	17,1	10,2	10 ^e —	8,2	12,8	11,6	12,0	11,7

IRRADIATION DE L'ANIMAL GAUCHE PAR 650 r DE RAYONS X
(100 KV, 12 mA, 50 r/min.).
LE S.R.E. DES DEUX ANIMAUX EST INTACT (Fig. 9)

Irradié						Protégé					
Couples	1	2	3	4	5	Couples	1	2	3	4	5
1 ^{er} jour	80,2	84,9	90,1	69,3	75,2	1 ^{er} jour	42,3	21,2	60,2	30,4	39,9
2 ^e —	72,4	75,9	82,7	71,3	61,8	2 ^e —	35,2	38,4	49,3	35,6	42,3
3 ^e —	73,9	70,2	78,4	70,0	70,2	3 ^e —	30,9	28,2	30,6	30,9	28,3
4 ^e —	62,9	66,8	62,9	69,3	62,6	4 ^e —	28,9	22,3	42,9	30,4	31,6
5 ^e —	55,3	61,2	64,3	48,2	60,3	5 ^e —	29,2	21,7	40,3	31,6	29,7
6 ^e —	45,2	41,2	51,3	48,1	47,7	6 ^e —	22,3	21,4	28,3	29,3	25,0
7 ^e —	48,0	48,0	45,2	38,9	37,2	7 ^e —	29,2	22,5	38,5	29,9	29,2
8 ^e —	38,2	37,2	21,3	48,1	36,9	8 ^e —	28,3	10,4	29,2	28,3	15,0
9 ^e —	30,8	36,2	39,3	28,9	30,0	9 ^e —	15,8	14,2	26,9	21,2	17,7
10 ^e —	30,2	18,9	22,4	25,3	26,3	10 ^e —	—	—	—	—	—

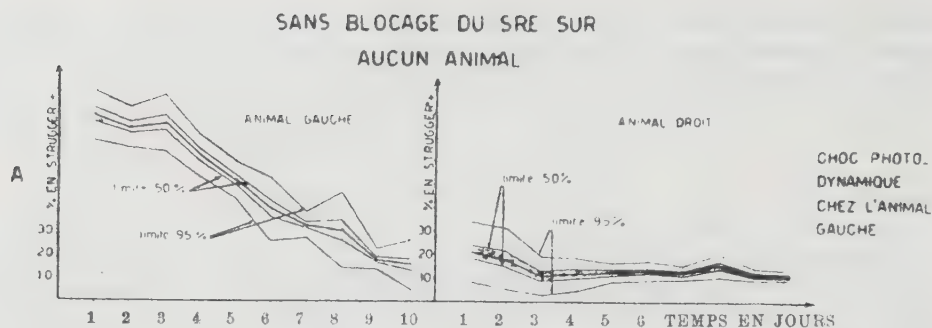


Fig. 8. — Diagramme Strugger de la tumeur A-A inoculée à deux rats en parabiose, après réalisation d'un choc photodynamique chez l'animal gauche. La phagocytose réticuloendothéliale des deux animaux est intacte. Le diagramme Strugger de l'animal non irradié correspond à celui des témoins non traités. L'expérience porte sur 5 parabionts.

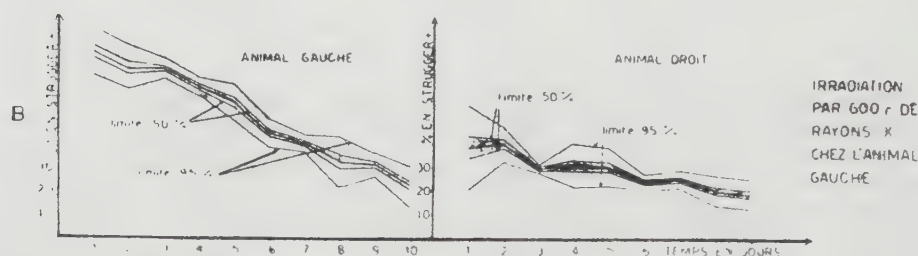


Fig. 9. — Diagramme Strugger de la tumeur A-A inoculée à deux rats en parabiose, après irradiation de l'animal gauche par les rayons X. La phagocytose réticuloendothéliale des deux animaux est intacte. Le pourcentage des cellules Strugger-positives de la tumeur inoculée à l'animal irradié est plus élevé que celui des témoins non traités. L'expérience porte sur 5 parabionts.

**RÉALISATION D'UN CHOC PHOTODYNAMIQUE
CHEZ L'ANIMAL GAUCHE.
LE S.R.E. DES DEUX ANIMAUX EST BLOQUÉ (Fig. 9)**

Irradié

Couples	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 ^{er} jour	81,9	79,2	90,0	79,2	80,8	80,6	84,2	91,3	83,6	88,9	78,0	81,9
2 ^e —	97,2	68,1	70,2	68,3	74,9	78,3	69,1	82,2	75,3	79,1	61,2	72,2
3 ^e —	82,3	78,1	75,3	80,0	81,2	77,9	79,4	78,8	81,2	89,3	80,9	76,1
4 ^e —	70,8	74,2	69,1	69,2	75,3	72,3	68,8	67,4	75,3	69,2	71,2	72,3
5 ^e —	65,1	69,2	64,3	58,1	70,2	66,6	62,1	61,4	58,3	59,5	50,1	48,3
6 ^e —	62,4	58,9	57,3	51,2	60,9	62,3	58,3	57,2	50,2	48,1	61,9	60,4
7 ^e —												
8 ^e —	57,2	60,1	48,3	40,9	55,2	57,3	58,4	60,0	38,2	44,3	31,5	48,2
9 ^e —	33,4	40,9	38,9	37,2	38,3	39,3	47,7	51,5	55,6	31,2	32,4	41,3

Protégé												
Couples	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 ^{er} jour	66,3	58,2	52,1	60,6	71,2	41,2	38,3	50,1	55,3	61,5	49,3	31,4
2 ^e —	71,9	52,9	48,3	65,7	67,8	47,3	44,2	54,6	60,2	64,8	50,1	36,7
3 ^e —	65,9	49,1	48,7	60,0	78,6	60,1	41,2	55,3	52,4	60,7	59,3	37,2
4 ^e —	59,7	41,3	60,2	58,3	41,4	52,9	45,3	33,7	40,8	57,2	45,1	28,3
5 ^e —	54,2	38,9	42,7	50,0	38,4	39,9	40,1	42,8	38,4	52,2	44,3	31,1
6 ^e —	51,3	44,8	48,1	55,7	37,3	31,8	48,4	39,2	28,1	12,3	40,0	36,2
7 ^e —	42,6	48,9	41,2	33,5	37,9	34,2	40,0	31,0	29,2	28,3	37,5	38,2
8 ^e —	33,4	41,2	54,1	30,2	25,3	44,9	50,3	61,4	15,3	12,8	49,2	28,3
9 ^e —	35,8	37,2	33,5	21,4	50,1	38,0	33,5	39,9	20,4	40,1	35,3	30,0

*IRRADIATION DE L'ANIMAL GAUCHE PAR 650 r DE RAYONS X.
(100 KV, 12 mA, 50 r/min.)
LE S.R.E. DES DEUX ANIMAUX EST BLOQUÉ (Fig. 10)*

Irradié												
Couples	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 ^{er} jour	84,3	78,2	98,0	72,6	72,8	81,5	84,2	69,3	78,2	91,3	72,9	81,9
2 ^e —	89,2	62,1	91,3	68,2	77,3	80,0	80,0	65,9	74,6	88,9	70,2	70,3
3 ^e —	78,8	60,2	75,3	52,7	55,8	67,9	78,3	60,1	72,8	78,2	60,6	68,5
4 ^e —	60,2	67,1	78,3	42,9	35,4	57,2	68,1	55,3	68,7	64,2	60,1	35,1
5 ^e —	58,2	50,1	70,1	55,1	40,8	50,5	48,3	51,6	58,4	60,2	59,3	40,2
6 ^e —	50,1	48,2	55,6	55,7	42,5	48,3	42,1	40,8	41,1	48,9	49,2	42,3
7 ^e —	48,2	50,3	56,2	54,8	mort	49,3	55,1	47,6	mort	50,3	48,1	38,3
8 ^e —	45,1	50,1	48,2	mort		45,1	40,1	44,8		49,2	mort	40,0
9 ^e —	41,9	mort	38,4			40,9	35,7	41,8		44,3		mort
10 ^e —	mort		40,0			37,3	31,5	mort		49,1		

Protégé												
Couples	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 ^{er} jour	71,3	62,4	58,6	61,6	75,8	66,2	55,7	40,1	59,6	62,9	64,8	72,4
2 ^e —	66,2	51,7	49,9	60,2	68,2	29,9	51,2	48,3	50,3	54,8	58,7	66,0
3 ^e —	60,2	49,3	46,4	55,3	59,6	31,4	56,3	48,3	51,2	41,2	45,6	42,8
4 ^e —	58,3	47,2	38,5	37,6	39,7	40,8	49,2	45,6	48,6	40,8	46,1	42,7
5 ^e —	50,3	48,1	40,4	36,9	46,4	45,1	41,2	39,7	40,8	41,9	34,7	38,3
6 ^e —	46,7	44,1	48,7	33,7	42,6	41,5	40,3	37,4	38,2	48,9	30,2	35,6
7 ^e —	41,2	38,4	37,6	28,2	—	39,2	44,3	30,4	—	43,2	34,6	28,1
8 ^e —	36,2	34,2	33,4	—		22,3	37,2	28,2		40,9	—	29,0
9 ^e —	37,9	—	38,5			24,1	35,1	26,3		32,3		—
10 ^e —	—		28,2			18,9	22,3	—		35,1		

La Fig. 8 montre que le choc photodynamique, appliqué à l'un des deux rats en parabiose, ne provoque aucun effet à distance chez l'animal non irradié (courbe A), alors que l'irradiation aux rayons X entraîne une augmentation

significative du taux des cellules Strugger-positives de la tumeur d'ascite de l'animal protégé (Fig. 9). C'est cette différence qui est difficile à interpréter. Faut-il admettre que l'action des rayons X, contrairement à celle des rayons lumineux agissant sur un tissu photosensibilisé, engendre la formation de substances capables de franchir la « barrière parabiologique » ou s'agit-il là d'une radiolésion locale provoquée par le rayonnement diffusé ? Pour l'instant, cette question reste sans réponse.

La Fig. 10, par contre, représentant l'effet du blocage du système réticulo-endothélial sur les phénomènes consécutifs au choc photodynamique, montre un effet à distance marqué au niveau de la tumeur de l'animal parabiologique non irradié. C'est l'injection de la suspension de carbone qui permet le passage des radiotoxines d'un animal à l'autre, ce qui indique que le carbone compromet un mécanisme de neutralisation. On peut correctement attribuer ce mécanisme de neutralisation aux structures qui captent les particules injectées et dont les

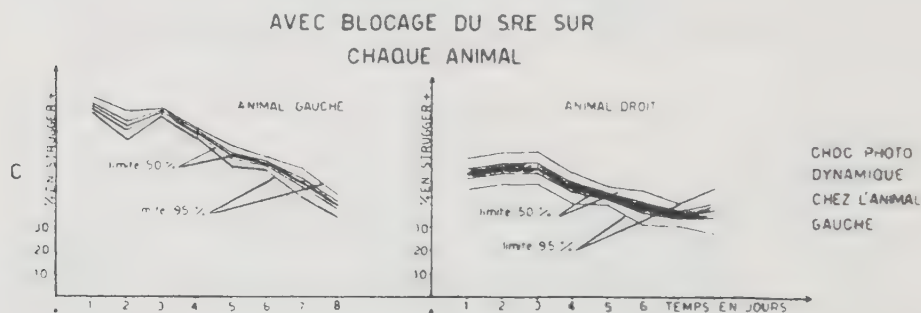


Fig. 10. — Diagramme Strugger de la tumeur A-A inoculée à deux rats en parabiose, après réalisation d'un choc photodynamique chez l'animal gauche. La phagocytose réticuloendothéliale des deux animaux a été inhibée par l'injection intraveineuse d'une suspension de particules de carbone. On constate un effet à distance marqué au niveau de la tumeur d'ascite inoculée à l'animal non irradié. L'expérience porte sur 12 parabionts.

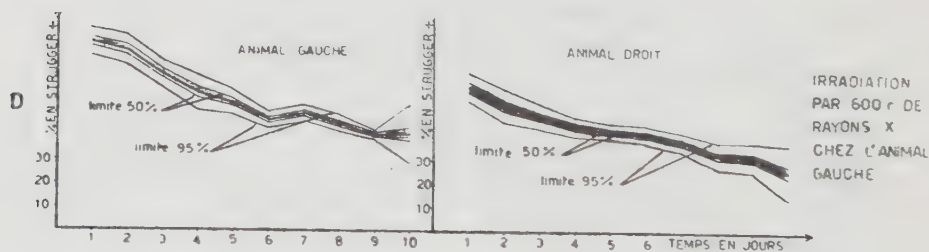


Fig. 11. — Diagramme Strugger de la tumeur A-A inoculée à deux rats en parabiose, après irradiation de l'animal gauche par les rayons X. La phagocytose réticuloendothéliale des deux animaux a été inhibée par l'injection intraveineuse d'une suspension de particules de carbone. On constate au niveau de la tumeur d'ascite inoculée à l'animal non irradié, une augmentation du taux des cellules Strugger-positives que dépasse sensiblement celle constatée au cours de l'expérience représentée dans la Fig. 10. L'expérience porte sur 12 parabionts.

propriétés phagocytaires sont solidement établies, c'est-à-dire au système réticuloendothélial.

Pour ce qui est des rayons X, le blocage du système réticuloendothélial accentue et prolonge sensiblement l'effet au niveau de la tumeur de l'animal enfermé dans le compartiment protégé (Fig. 11). On peut en déduire, compte tenu de ce que nous avons dit au sujet de la courbe B de la même figure, que, chez l'animal protégé, un effet à distance s'ajoute à un effet dont l'explication reste incertaine.

e) Discussion.

Pour qu'un effet à distance surgisse au sein de l'animal non irradié, il est nécessaire que l'épuration des radiotoxines dans les organismes associés par parabiose s'opère moins vite que leur passage d'un animal à l'autre. (cf. pag. 12). Chez les animaux en parabiose dont l'épuration réticuloendothéliale s'effectue normalement, les radiotoxines, dans les conditions expérimentales mentionnées, n'atteignent pas l'organisme de l'animal non irradié. Par contre, le blocage du système réticuloendothélial, effectué chez les deux organismes associés par parabiose, se traduit par le passage de fractions efficaces des radiotoxines de l'animal irradié à l'animal protégé contre l'action locale du rayonnement utilisé.

Cette observation, à notre avis, confirme les deux conclusions essentielles formulées à la suite des expériences précédentes :

1° les effets à distance sont dus à l'action de substances toxiques ;

2° le système réticuloendothélial neutralise des fractions appréciables de ces substances.

f) Complément : la chute du poil du rat en parabiose non irradié.

La chute du poil du rat en parabiose dont le partenaire a été irradié aux rayons X, signalé par Van Dyke et Huff en 1949, a été vérifié par nous sur sept couples en parabiose. La chute du poil du rat protégé survient après 15 jours, peut durer une ou deux semaines et coïncide avec celle constatée chez l'animal irradié. Van Dyke et Huff signalent que la chute du poil du rat protégé se produit avant celle du rat irradié et que sa durée est moins longue. Nous n'avons pas pu constater cette différence. De plus, la chute du poil ainsi obtenue est fort inégale chez les différents parabionts.

Étant donné l'intervalle considérable entre l'irradiation et la chute du poil, la longue durée de cette dernière et le bref blocage de la phagocytose produit par le carbone, nous n'avons pas essayé d'influencer ce phénomène par l'injection d'une suspension de carbone.

Van Dyke et Huff, eux aussi, ont fait des mesures dans le compartiment protégé du dispositif qu'ils ont employé et signalent une dose de 27 r, sans préciser la qualité de ce rayonnement. Une dose aussi faible, il est vrai, ne produit pas de chute du poil, mais nos expériences personnelles, exposées plus haut, nous incitent à être prudent quant à l'explication définitive du phénomène de la chute du poil provoquée à distance. Peut-être des irradiations partielles au moyen d'une radiation ionisante non pénétrante permettront-elles, un jour, des expériences plus concluantes.

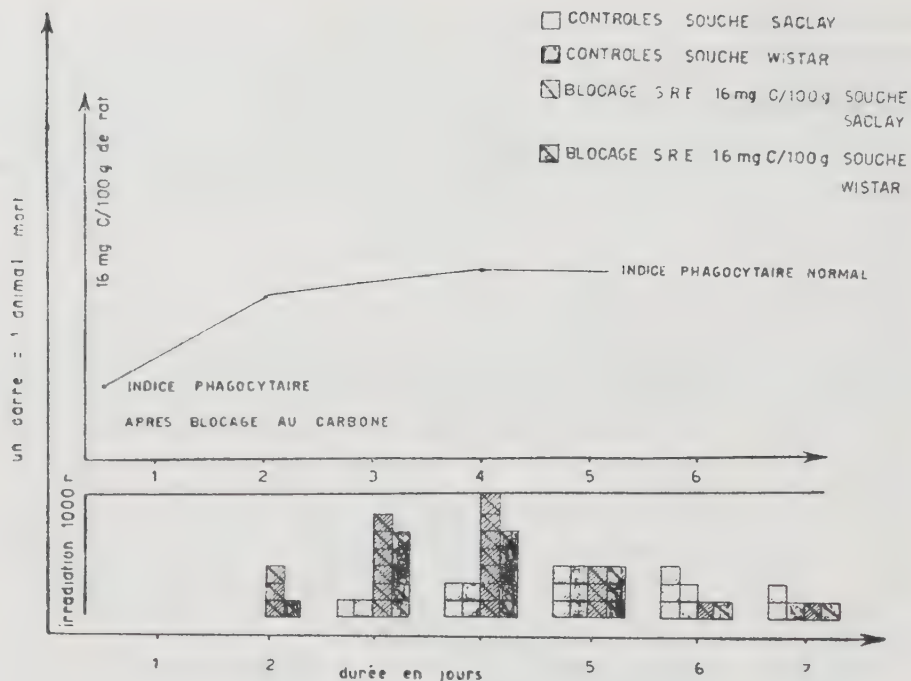


Fig. 12

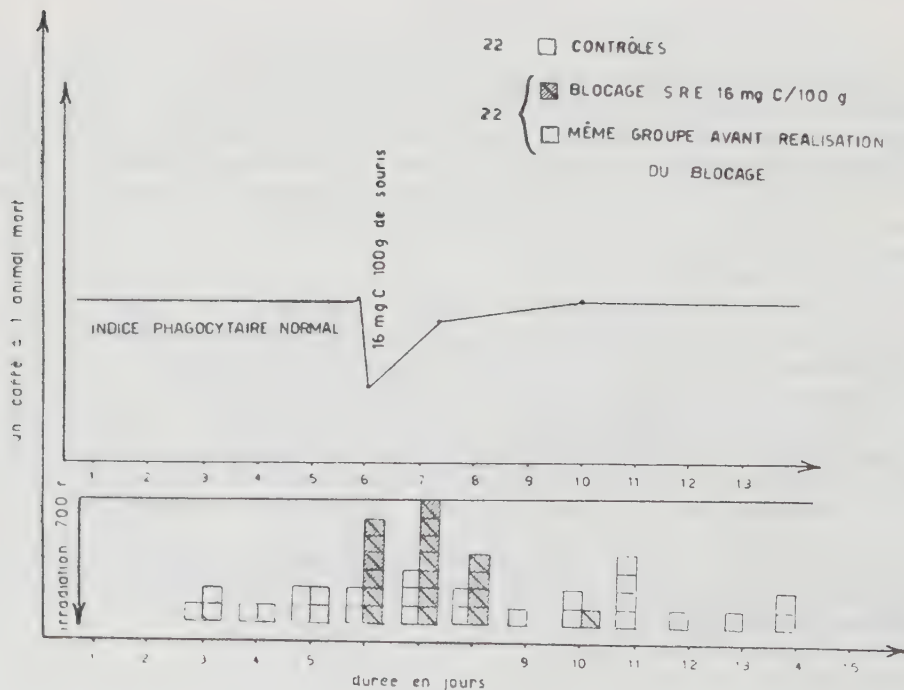


Fig. 13

VI. — *Influence du blocage du système réticuloendothélial sur la mortalité des rats et des souris irradiés aux rayons X*

1^o Introduction.

La toxicose génératrice des effets à distance, comme nous l'avons vu plus haut, est identique à celle qui peut entraîner la mort après des doses élevées d'un rayonnement non pénétrant. On sait que l'irradiation par un rayonnement pénétrant, elle aussi, engendre une intoxication de l'organisme considéré (Feine, Hug), mais son étude exacte est difficile ; cette intoxication est compliquée par l'ensemble des radiolésions locales. Cependant, le fait que l'injection intraveineuse d'un système granulaire chimiquement inerte compromet la neutralisation des radiotoxines, nous permet peut-être d'étudier l'action radiotoxique dans un organisme qui a subi l'action d'un rayonnement pénétrant. La tumeur d'ascite étant sensible à l'action locale d'un rayonnement, l'étude de l'action radiotoxique dans l'organisme ayant subi une irradiation pénétrante ne peut pas se faire à l'aide du diagramme Strugger d'une telle tumeur. Nous proposons comme paramètre la survie des animaux irradiés en fonction du blocage de la phagocytose réticulo-endothéliale.

Les protocoles expérimentaux exposés par la suite ont pour but de comparer la survie des animaux irradiés non traités avec celle des animaux ayant reçu des injections intraveineuses de carbone en suspension.

2^o Protocoles expérimentaux.

N^o 1. L'expérience porte sur un ensemble de 88 rats blancs adultes de 250 g. (mâles), divisé en deux lots de 44 animaux, comprenant chacun 22 rats Wistar et 22 rats de l'élevage de Saclay. Les animaux de l'un de ces deux lots reçoivent par voie intraveineuse (veine du penis) 40 mg. de C. Ensuite, les 88 rats sont irradiés par 1000 r de rayons X (130 KV, 12 mA, 50 r/min.).

Résultat :

Nombre des animaux morts

Jours	1	2	3	4	5	6	7
S.R.E. libre			2	4	6	5	3
S.R.E. bloqué		3	11	12	6	2	2

Jusqu'au cinquième jour, la mortalité des rats ayant reçu du carbone par voie intraveineuse est donc plus élevée que celle des contrôles (Fig. 12).

N^o 2. L'expérience porte sur un ensemble de 60 souris blanches adultes de sexe différent, divisé en deux lots de 30 animaux. Les animaux de l'un de ces deux lots reçoivent par voie intraveineuse (veine de la queue) 16 mg. C/100 g. animal. Ensuite, on irradie les 60 souris par 700 r de rayons X (130 KV, 12 mA, 50 r/min.).

Résultat :

Nombre des animaux morts

Jours	1	2	3	4	5	6	7
S.R.E. libre				1	3	2	
S.R.E. bloqué		2	3	7	5	2	1

La mortalité des souris ayant reçu du carbone par voie intraveineuse est donc plus élevée que celle des témoins.

N° 3. L'expérience porte sur un ensemble de 44 souris blanches adultes de sexe différent, divisé en deux lots de 22 animaux. Les 44 souris sont irradiées par 700 r de rayons X (130 KV, 12 mA, 50 r/min.). 6 jours après l'irradiation, on injecte aux animaux en survie de l'un de ces deux lots 16 mg. C/100 g. animal.

Résultat :

Nombre des animaux morts

Jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
S.R.E. libre			3	2	4	2	3	2	1	2
S.R.E. bloqué						6	7	4	0	1

L'injection intraveineuse du carbone, réalisée 5 jours après l'irradiation, se traduit donc par une élévation instantanée de la mortalité des animaux irradiés (Fig. 13).

N° 4. L'expérience porte sur un ensemble de 28 rats blancs de 250 g. (mâles), divisé en deux lots de 14 animaux comprenant chacun 7 rats Wistar et 7 rats de l'élevage de Saclay. Les animaux de l'un de ces deux lots reçoivent par voie intraveineuse 40 mg. C. Ensuite, on irradie les 28 rats par 5000 r de rayons X (130 KV, 12 mA, 50 r/min.).

Résultat :

Nombre des animaux morts

Jours	1	2	3	4	5
S.R.E. libre				2	12
S.R.E. bloqué			4	10	

Au bout de 3 jours, tous les animaux irradiés ayant reçu du carbone par voie intraveineuse sont morts alors que les contrôles meurent seulement au cours de la quatrième journée (Fig. 14).

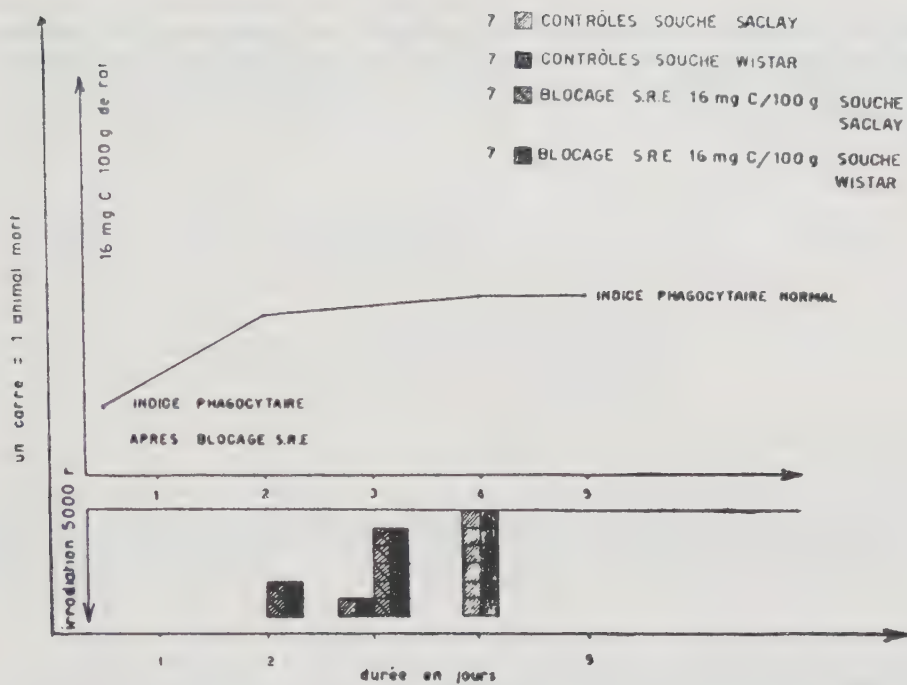


Fig. 14

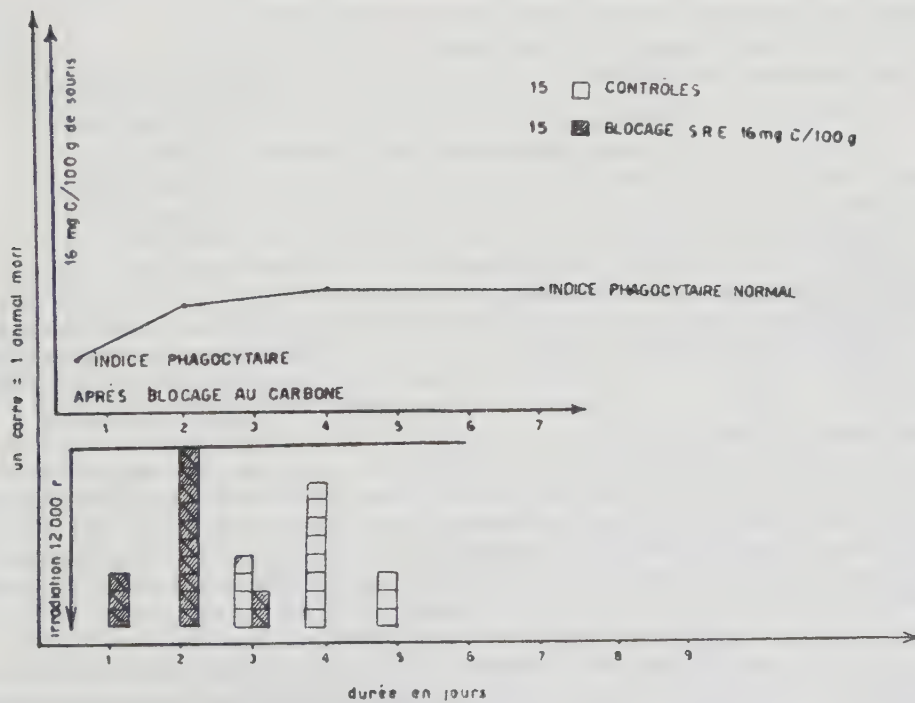


Fig. 15

N° 5. L'expérience porte sur un ensemble de 30 souris blanches adultes de sexe différent, divisé en deux lots de 15 animaux. Les animaux de l'un des deux lots reçoivent une injection de carbone dans les conditions précisées plus haut. Ensuite, les 30 souris sont irradiées dans des conditions identiques à celles des expériences précédentes.

Résultat :

Nombre des animaux morts

Jours	1	2	3	4	5
S.R.E. libre			4	8	3
S.R.E. bloqué	3	10	2		

L'injection de carbone se traduit donc par une élévation presque instantanée de la mortalité des animaux irradiés (Fig. 15).

3° Discussion.

Pour tenter une explication de ces phénomènes, nous admettons à titre d'hypothèse que le carbone injecté produit les mêmes effets dans un organisme que ce dernier ait été irradié par un rayonnement pénétrant ou non pénétrant. Dans ce cas, on peut déduire des expériences précédentes que :

1° l'effet fatal d'une irradiation totale par un rayonnement pénétrant est dû non seulement aux radiolésions locales mais aussi à l'action radiotoxique ;

2° l'action radiotoxique est prédominante après des doses très élevées ;

3° la phagocytose réticuloendothéliale est un moyen de défense de l'organisme multicellulaire contre une conséquence essentielle de l'irradiation totale, c'est-à-dire l'action radiotoxique.

On sait que la mort provoquée par l'irradiation intervient après un intervalle dont la durée dépend essentiellement de la dose appliquée. On a souvent essayé d'assimiler cet intervalle à celui observé lors de la suppression d'un processus partiel, sans lequel, compte tenu de son importance particulière, l'organisme survit pendant une période définie (Brues, Sacher, 1952). Mais on n'a jamais pu préciser, dans le cas du syndrome d'irradiation, la nature de ce processus partiel. Les expériences qui viennent d'être exposées, nous semble-t-il, permettent d'envisager ce problème sous un jour différent. Aux lésions locales produites par le rayonnement s'ajoute une atteinte générale, représentée essentiellement par une toxicose et son action sur des structures spécialement réceptives, dont l'évolution, surtout après les irradiations aux doses élevées, peut déterminer celle du syndrome d'irradiation. L'importance de cette toxicose, après les doses entraînant la mort au bout de quelques jours, devient prédominante. Il faut se demander si la survie de 3,5 jours, qui caractérise l'effet des doses entre 2000 et 15.000 r pour la plupart des mammifères (Rajewsky, Heuse, Aurand, 1943 ; Rajewsky, Aurand, Heuse, 1953 ; Bonet-Maury, Patt, 1951), n'est pas l'expression d'une intoxication massive, c'est-à-dire, même dans le cas des rayonnements pénétrants, la conséquence d'effets à distance prédominants.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Les lésions consécutives à une irradiation peuvent être classées en deux catégories : celles qui se produisent au niveau du tissu irradié et celles qui apparaissent en dehors de celui-ci. Les premières, connues depuis la découverte des rayons ionisants, traduisent l'action locale du rayonnement ; les dernières, mises en évidence pour la première fois en 1924, sont l'équivalent morphologique d'une atteinte générale de l'organisme irradié.

Puisque le terme « effets indirects » est maintenant réservé à l'action radiochimique, le terme « effets à distance » semble le plus approprié.

Les observations faites par un certain nombre d'auteurs ainsi que les résultats de nos propres recherches, permettent d'affirmer que les effets à distance sont dus à l'action de produits d'histolyse apparaissant au niveau du tissu ayant absorbé l'énergie radiante, emportés par le courant sanguin et agissant sur des structures spécialement réceptives.

Tout porte à croire que les effets à distance sont des lésions non spécifiques, c'est-à-dire que les substances qui les provoquent n'ont pas de propriétés radiomimétiques. L'effet à distance, tel que le révèle le microscope, est probablement provoqué par une multitude de corps chimiquement différents qui, pris isolément, agiraient de manière plus ou moins différente. Dans la présente étude nous avons renoncé à leur analyse isolée ou leur identification chimique pour appliquer une méthode qui permet *une appréciation quantitative de leur action globale*.

Suivant l'exemple d'un certain nombre d'auteurs, nous appelons « radiotoxines » l'ensemble de ces substances apparaissant au niveau du tissu irradié et pouvant produire des effets biologiques ailleurs qu'à l'endroit de leur formation.

Un rayonnement non pénétrant peut produire un effet à distance au niveau d'une tumeur d'ascite inoculée à l'animal irradié. Les cellules de ces tumeurs, grâce à leur fragilité particulière, s'avèrent très sensibles à l'action des radiotoxines. De plus, la tumeur d'ascite, contrairement au cas des tissus solides, est accessible à des procédés de numération. Nous déterminons, au moyen d'un procédé de fluorochromation permettant la distinction entre les cellules vivantes et les cellules nécrobiotiques de la tumeur, l'évolution d'un effet à distance au sein d'une telle tumeur. Ceci nous permet de nous servir de la tumeur d'ascite comme « instrument de mesure biologique » de l'action radiotoxique.

L'application de cette méthode a révélé un certain nombre de faits qui nous aident à mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques impliqués dans les effets à distance.

L'intensité d'un effet à distance, telle qu'on peut la suivre au moyen d'une tumeur d'ascite, varie en fonction du temps. Après une irradiation unique par un rayonnement non pénétrant, l'intensité et la durée d'un effet à distance sont constantes. La décroissance de l'effet à distance doit être attribuée à une réduction progressive de l'action des radiotoxines.

On peut admettre que les radiotoxines provoquent la sécrétion d'autres corps biologiquement actifs, capable d'agir sur les mêmes structures qui peuvent présenter des effets à distance, compliquant ainsi leur mécanisme. Ceci est bien établi pour les corticostéroïdes. Mais il faut reconnaître que la distinction entre les radiotoxines et les substances produites par leur action n'est, malgré sa valeur heuristique, pas toujours réalisable et que l'intervention d'autres hormones que celles du cortex surrénalien reste possible.

L'injection intraveineuse d'une suspension de particules de carbone accentue et prolonge l'effet à distance vérifié au niveau d'une tumeur d'ascite. De même, l'introduction des particules de carbone dans le courant sanguin de deux rats en parabiose permet, après l'irradiation de l'un des deux animaux, la réalisation

d'un effet à distance au niveau d'une tumeur d'ascite inoculée à l'animal non irradié. De telles injections de particules de carbone réduisent temporairement la granulopexie du système réticuloendothélial et accentuent les états pathologiques faisant appel au pouvoir phagocytaire de celui-ci. Nous en concluons que des fractions importantes de radiotoxines sont neutralisées par le système réticuloendothélial.

L'introduction d'une suspension de particules de carbone dans le courant sanguin des animaux ayant reçu une dose léthale d'un rayonnement pénétrant se traduit par une élévation du taux de mortalité de ces animaux. Pour expliquer ce phénomène, nous émettons l'hypothèse que le carbone injecté produit les mêmes effets dans un organisme, que ce dernier ait été irradié par un rayonnement pénétrant ou non pénétrant. Ceci posé, on peut en conclure que :

a) L'effet fatal d'une irradiation totale par un rayonnement pénétrant est dû non seulement aux radiolésions locales mais aussi à l'action radiotoxique ;

b) la phagocytose réticuloendothéliale est un moyen de défense de l'organisme multicellulaire contre une conséquence essentielle de l'irradiation, c'est-à-dire l'action des substances radiotoxiques.

BIBLIOGRAPHIE

- P. M. APTEKMAN, A. E. BOGDEN. — A spontaneous Ascites Tumor originating in the Wistar Rat. *Cancer Res.* 15, 89 (1955).
- L. ASCHOFF. — Schittenhelms Handbuch der Krankheiten des Blutes und der blutbildenden Organe. Springer. Verlag, Berlin 1925.
- Z. M. BACQ. — L'action indirecte du rayonnement X et UV. *Experientia*, 7, 11 (1951).
- A. BECLERE. — The penetrating Irradiation Sickness. *Ann. J. Roentgenol.* 499 (1918).
- B. BENACERRAF, G. BIOZZI, B. N. HALPERN, C. STIFFEL, D. MOUTON. — Phagocytosis of heat denaturated Serum Albumin labelled with I. 131 and its use as a means of investigating Liver Blood Flow. *Brit. J., exper. Path.* XXXVIII, 35 (1957).
- B. BENACERRAF, B. N. HALPERN, G. BIOZZI, S. A. BENOS. — Quantitative Study of the granulopctetic Activity of the Reticuloendothelial System. III. The effect of Cortisone and Nitrogen Mustard on the regenerative Capacity of the R.E.S. *Brit. J. exper. Pathol.* XXXV, 97 (1954).
- B. BERGONIE, A. TRIBONDEAU. — Interprétation de quelques résultats de la radiothérapie et essai de fixation d'une technique rationnelle. *C. R. Soc. Biol.* 143, 983 (1906).
- P. BERT. — Expériences et considérations sur la greffe animale. *J. Anat. Physiol. Norm. Path. de l'Homme et des Animaux*, 1, 69 (1864).
- R. T. BINHAMMER, G. METZ, M. SCHNEIDER, J. C. FINERTY. — Histopathologic Changes in irradiated Rats protected by Parabiosis. *A.M.A. Arch. Path.* 59-594 (1955).
- G. BIOZZI, B. BENACERRAF, B. N. HALPERN. — The Effect of Salmonella typhi and its Endotoxin on the phagocytic Activity of the Reticuloendothelial System. *Brit. J., exper. Pathol.* XXXVI, 226 (1955).
- H. F. BLUM. — Domestic Animal Diseases caused by Light. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 93, 185 (1939).
- M. BOIRON, Cl. PAOLETTI, M. TUBIANA. — Étude comparative des lésions spléniques secondaires à une irradiation sélective de la rate ou à une irradiation in toto du rat par les rayons X. *C.R. Acad. Sci.* 241, 1231 (1955).
- P. BONET-MAURY. — Les phénomènes chimiques dans l'eau soumise aux radiations ionisantes. *Bull. Soc. Chim. France*, 18, 333 (1951).
- P. BONET-MAURY, F. PATTI. — Lethal Irradiation of Mice with high Doses of Roentgen and Gamma rays. *Radiology*, 57, 419 (1951).
- A. M. BRUES, G. A. SACHER. — Analysis of Mammalian Radiation Injury and Lethality. *Symposium on Radiobiology*. Ed. J. J. Nickson. John Wiley and Sons, N. Y. 1952, pag. 441.
- R. C. CARRIAN, T. GIBSON. — Die Aufnahme von markiertem Sulfat durch menschliche Knorpelzellen und seine Verwendung als Probe fuer das Leben der Zelle. *Proc. Roy. Soc.* 144, 572 (1956).
- W. M. COURTE-BROWN, R. F. MAHLER. — Integral Dose, Body Size and Site of Irradiation as Factors determining the Severity of Radiation Injury. *J. Fac. Radiol.* 5, 200 (1954).
- E. P. CRONKITE, V. P. BOND. — Effects of Radiation on Mammals. *Ann. Rev. Physiol.* 18, 483 (1956).

- H. J. CURTIS. — The Biological Effects of Radiations. Advances in biological and medical Physics. Ed. J. H. Lawrence, J. G. Hamelton. Vol. II, pag. 29. Academic Press Inc., New-York, 1951.
- W. M. DALE. — Basic Radiation Chemistry. Radiation Biology, ed. A. Hollaender, Volt, pag. 277. Mc Graw Hill, New-York, 1954.
- W. C. DELONG. — The Nitrogen Mustards, a Review. U.SAEC - Report H. W. - 18.823 (1950).
- M. DESSAUER. — Quantenbiologie, pag. 38. Springer Verlag, Berlin-Göttingen. Heidelberg, 1954.
- F. T. DOUGHERTY, A. WHITE. — Effects of prolonged Stimulation of the adrenal Cortex on the Number of circulating Erythrocytes and Lymphocytes. Endocrinology, 36, 17 (1944).
- M. DRUCKREY. — Chemotherapie des Krebses. Klin. Wschr. 33, 784 (1955). Pharmakologische Kriterien für die Prüfung von Krebs-chemotherapeutika. Naturwissenschaften, 21, 486 (1956).
- M. EBERT. — H_2O_2 - Bildung durch ionisierende Strahlung und deren Bedeutung fuer die Strahlenbiologie. Strahlentherapie, 97, 71 (1955).
- A. EDELMAN. — Toxicity of Serum from irradiated Animals. Science, 121, 622 (1955).
- U. FEINE, O. HUG. — Die pathologische Anatomie der akuten Strahlenschäden. Wissenschaftliche Grundlagen des Strahlenschutzes, pag. 84. Ed. B. Rajewsky, Verlag G. Braun, Karlsruhe (1957).
- J. C. FINERTY. — Parabiosis in physiological Studies. Physiol. Rev. 32-277 (1952).
- M. A. GEREBTZOFF, A. HERVE. — Modification précoce et passagère de l'oligodendroglye après application de rayons X sur les pattes postérieures du lapin. C.R. Soc. Biol. CXLIII, 880 (1949).
- W. GOESSNER. — Zur Histochemie des Struggereffekts. Verh. Dtsch. Path. Ges. 33, 103 (1949).
- H. GOLDIE. — Growth Characteristics of free Tumor Cells in various Body Fluids and Tissues of the Mouse. Conf. Asc. Tum., Quant. Oncol. - N.Y. Acad. Sci. 19 mai 1955.
- E. S. GUZMAN-BARON. — The Effects of ionizing Radiation on Systems of biological Importance. Ann. N.Y. Acad. Sci. 59, 574 (1955).
- B. N. HALPERN, B. BENACERRAF, G. BIOZZI, C. STIFFEL. — Facteurs régissant la fonction phagocytaire du système réticuloendothélial. Rev. d'Hématologie, 9, 621 (1954).
- Th. HORNKYIEWITSCH, W. SOHRE, H. St. STENDER. — Die Bedeutung der Ausgangslage fuer den Reaktionsverlauf nach Ganzkoerperbestrahlung. Strahlentherapie, 95-527 (1954).
- B. JOLLES. — A diffusible substance in irradiated tissue? Nature, 164, 63 (1949).
- J. JOLLY. — Action des rayons sur les cellules. C.R. Soc. Biol. 91, 532 (1923).
- J. KALTENBACH, M. H. KALTENBACH. — Comparative metabolic Study of MC 1 Ascites and a Suspension of whole Cells obtained from MC 1 M soled Tumor. Conf. Asc. Tum. Quant. Oncol. N.Y. Acad. Sci. 19 mai 1955, page 17.
- L. S. KELLY, H. B. JONES. — Effects of Irradiation on nucleic Acid Formation. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 74-493 (1950).
- G. KLEIN. — Conversion of solid Neoplasms into Ascites Tumors. Conf. Asc. Tum. Quant. Oncol. New-York Acad. Sci. 14 mai 1955, pag. 2. Neoplastic growth. Ann. Rev. Physiol. 16, 13 (1956).
- H. KOELBEL. — Quantitative Untersuchungen ueber die Farbstoffspeicherung von Akridinoraguge in lebenden und toten Hefezellen und ihre Beziehungen zu den elektrischen verhältnissen der Plasmaeiweiskoerper. Zeitschr. Naturwissenschaft, 73-97 (1947).
- F. KOK, K. VORLAENDER. — Biologische Versuche ueber die Wirkung der Bestrahlung auf das Karzinom. Strahlentherapie, 14-497 (1923).
- A. KREBS, Z. S. GERLACH. — Vital Staining with the Fluorochrome Acridin Orange

- and its Application to Radiobiology. I. Alpha-ray Effects. *Am. J., Roentgenol. Rad. Ther.* 65, 93 (1951).
- A. LACASSAGNE, G. GRICOUROFF. — Action des radiations ionisantes sur l'organisme. Masson, Paris 1956.
- G. F. LATA, J. REINERTSON. — Cholesterol Synthesis by isolated Rat Liver Cells. *Nature*, 179, 47 (1957).
- G. H. LAWRENCE. — The Effect of total Body X Irradiation on 17 - Ketosteroid Excretion in Dogs. *Endocrinology*, 45, 383 (1949).
- J. O. LAWS, L. H. STICKLAND. — Metabolism of isolated Liver Cells. *Nature*, 178, 309 (1956).
- B. V. A. LOW-BEER, J. A. LAWRENCE, R. S. STONE. — The therapeutic Use of artificially produced radioactive Substances; Radiophosphorus, Radiostrontium, Radioiodine, with special reference to Leukemia and allied Diseases. *Radiology*, 39, 573 (1942).
- F. LUDWIG. — Sur l'utilisation de l'effet Strugger pour l'étude cytologique des effets de l'irradiation par le rayonnement gamma. *C.R. Acad. Sci.* 239-957 (1954) b.
L'effet du radiophosphore sur les cellules marquées avec cet élément. *C.R. Acad. Sci.* 239-453 (1954) a.
Régression d'une tumeur d'ascite inoculée à un animal préalablement irradié. *C.R. Soc. Biol. Paris*, 1957, a (sous presse).
Quelques effets à distance produits par le choc photodynamique chez les petits mammifères de laboratoire. *Int. J. Appl. Rad. Isotop.* 2, 44 (1957) b.
Nature et signification des effets à distance dans les organismes méazoaires irradiés. *Confér. Société d'Anatomie de Paris*, octobre 1957, c.
- C. L. MARTIN, W. H. MOURSUND. — Irradiation Sickness. *Radiobiology*, 30, 277 (1938).
- R. M. MAY. — La transplantation animale, pag. 282. Gauthiers-Villars, Paris 1932.
- B. OUDIN, J. BARTHELEMY, J. DARIER. — Accidents cutanés et viscéraux consécutifs à l'emploi des rayons X. *France Med.* 45, 113 (1898).
- H. M. PATT. — Measurement and Nature of Growth Curves of Ascites Tumors. *Conf. Asc. Tum. Quant. Oncol. N.Y. Acad. Sci.* 19 mai 1955, page 5.
- H. M. PATT, A. M. BRUES. — The Pathological Physiology of Radiation Injury in the Mammal. II. Specific Aspects of the Physiology of Radiation Injury. Ed. Hollaender, *Radiation Biology*, Part I, pag. 959. Mc Graw Hill, New-York - Toronto - London, 1954.
- R. PINKNEY-RHOADES. — Structures Accessory to the gastrointestinal Tract. Chap. II de Bloom, *Histopathology of Irradiation from external and internal Sources*, pag. 545, Mc Graw Hill, Inc., New-York (1948).
- H. QUASTLER. — Mort consécutive à une irradiation brève. Vol. XI. L'utilisation de l'Énergie Atomique à des fins pacifiques. *Actes de la Conférence Internationale de Genève*. Août 1955. Nations Unies - Genève 1956, pag. 137.
- B. RAJEWSKY, K. AURAND, O. HUG, H. MERGLER, H. PAULY, A. SCHRAUB, E. SIX, I. WOLF. — Strahlendosis und Strahlenwirkung. Georg. Thieme. Stuttgart (1954).
- B. RAJEWSKY, O. HEUSE, K. AURAND. — Weitere Untersuchungen zum Problem der Ganzkoerperbestrahlung bei weissen Mäusen. Sofortiger Tod durch Bestrahlung. *Zschr. Naturforsch.* 8, 157 (1943).
- B. RAJEWSKY, K. AURAND, O. HEUSE. — Weitere Untersuchungen zum Problem der Bestrehlung der weissen Maus mit hohen Dosen von Roentgen-strahlen. Teilkoerperbestrahlung. *Zschr. Naturforsch.* 8, 524 (1953).
- J. R. RAPER, K. K. BARNES. — Effects of external Radiation with Beta Rays on the perpiherical Blood of Rabbits. Ed. R. E. Zirkle, *effects of external Beta Irradiation*, Mc Graw Hill. New-York 1951, pag. 179.
- J. R. RAPER, R. E. ZIRKLE, K. K. BARNES. — Comparative lethal Effects of external Beta Irradiation. Ed. R. E. Zirkle. Mc Graw Hill Book Company, New-York, 1951.
- G. ROUSSY, R. LEROUX, Ch. OBERLING. — Précis d'Anatomie pathologique. Masson, Paris 1950, pag. 1036.

- Sh. St. GEORGE, W. FRIEDMAN, O. BYERS. — Mass Separation of Reticuloendothelial Cells of Rat Liver. *Science*, 120, 463 (1954).
- F. SAUERBRUCH, M. HEYDE. — Ueber die Parabiose kuenstlich vereinigter Warmblueter. *Muench. Med. Wschr.* 55, 153 (1908).
- N. SCHUMMELFEDER. — Die Grundlage der differenten Fluorochromierung von Ribo - und Desoxyribonukleinsäure mit Akridin-orange. *Naturwissenschaften* 17, 467 (1957).
- C. C. SELBY, I. J. BIESELE, C. E. GREY. — Electron Microscope Studies of Ascites Tumor Cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 63, 748 (1956).
- C. C. SELBY, C. E. GREY, S. LICHTENBERG, C. FRIEND, M. E. MOORE, I. J. BIESELE. — Submicroscopic Particles occasionally found in the Ehrlich Mouse Ascites Tumor. *Cancer Res.* 14, 790 (1954).
- R. S. SNIDER, J. R. RAPER. — Histopathological Effects of single Doses of total Surface Beta Irradiation on Mice. Ed. R. E. Zirkle. *Effects of external Beta Irradiation*. Mc Graw Hill, 1951, pag. 152.
- G. E. STAPLETON, H. J. CURTIS. — Atomic Energy Comm. Techn. Inform. Dir. Abstr. of class. Doc. MDDC - 696, Novembre 10, 1947.
- K. W. STENSTROM, H. VERMUND, D. G. MUSSER, J. F. MARVIN. — Effects of Roentgen Irradiation on the Tumor Bed. The Inhibiting Action of local pre-transplantation Irradiation on the Growth of Mouse mammary Carcinoma. *Rad. Res.* 2, 180 (1955).
- S. STRUGGER. — Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen ueber die Aufnahme und Speicherung der Akridinorange durch lebende und tote Pflanzenzellen. *Jenaer Zeitschr - Naturwissensch.* 73, 382 (1940).
- S. STRUGGER, A. KREBS, Z. S. GERLACH. — Investigation into the first Effects of Roentgen Rays on living Protoplasm as studied with modern Fluorochroms. *Am. J. Roentgenol. Rad. Ther. Nucl. Med.* 70, 365 (1953).
- G. VAN DYKE, R. L. HUFF. — Epilation in the non irradiated Member of parabiotically united Rats. *Proc. Soc. Exper. Med. Biol.* 72, 266 (1949).
- G. F. WARNER, E. L. DOBSON. — Disturbances in the reticuloendothelial system following thermal injury. *Am. J. Physiol.* 179-93 (1954).
- G. WILHELM. — Ueber die Corticoid und Ketosteroidausschuetzung im Urin der weissen Maus nach Roentgenbestrahlung. *Strahlentherapie*, 87, 75 (1955).
- L. ZIZINE. — Action de la cortisone sur les hormones gonadotropes du rat. *Ann. Endocrin.* 16, 708 (1955).

ACHEVÉ D'IMPRIMER
SUR LES PRESSES DE
L'IMPRIMERIE TYPOGRAPHIQUE
D'ÉDITION A COLOMBES
LE 30 JUIN 1959

Dépôt légal 2^e trimestre 1959

Imprimé en France

